



Universidad
**Católica de
Valencia**
San Vicente Mártir

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud

TRABAJO FIN DE GRADO

UTILIDAD DEL PEPTEST EN EL DIAGNÓSTICO DEL REFLUJO FARINGOLARÍNGEO: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Presentado por: Francisco Tárrega Tirado

Directora: Marta de Todos los Santos Faubel Serra

Valencia, a 16 de junio de 2021

Agradecimientos:

A mis padres, por todo el esfuerzo que han realizado para que pudiese cursar esta carrera y, sobre todo, por su apoyo y cariño.

A mi hermana Patri, que es lo mejor que tengo en esta vida.

A mis abuelos, que sin duda son las personas más orgullosas de que su nieto sea médico.

A mis amigos, tanto médicos como “resanos”, porque han conseguido que pase los mejores años de mi vida. En especial, a David, Rafa y Juan Carlos por hacer del “Gorgias” mi hogar.

A mi amiga Ana, por estar siempre que lo he necesitado.

A mis amigos y amigas de Castellón, porque son los que estuvieron y estarán siempre.

A Lucena y su gente, por permitirme desconectar cuando era necesario.

Y a todos los profesores, por dedicar su tiempo en nosotros e inculcarnos unos valores necesarios en esta profesión, y especialmente, a Marta por darme la oportunidad de dirigir este trabajo.

ÍNDICE

1.	Resumen y abstract.....	1
1.1.	Resumen	1
1.2.	Abstract	2
2.	Introducción	3
2.1.	Justificación del estudio	3
2.2.	Definición.....	4
2.3.	Etiopatogenia	5
2.3.1.	Factores defensivos.....	5
2.3.2.	Factores agresivos	6
2.4.	Fisiopatogenia	7
2.5.	Síntomas y signos	8
2.6.	Métodos diagnósticos.....	11
2.6.1.	Reflux Symptoms Index (RSI)	11
2.6.2.	Reflux Finding Score (RFS).....	12
2.6.3.	Test de tratamiento empírico con IBPs.....	13
2.6.4.	Hypopharyngeal-Esophageal Multichannel Intraluminal Impedance-pH (HEMII-pH).....	14
2.6.5.	Monitorización del pH orofaríngeo (Restech Dx-pH)	15
2.7.	Test de pepsina en saliva (Peptest)	15
2.8.	Tratamiento	17
3.	Objetivos.....	19
3.1.	Objetivo principal	19
3.2.	Objetivos específicos	19
4.	Materiales y métodos.....	19
4.1.	Estrategia de búsqueda	19

4.2.	Método de selección de los estudios	19
4.3.	Criterios de inclusión y exclusión	20
4.4.	Variables analizadas	21
5.	Resultados.....	23
6.	Discusión	37
7.	Conclusiones	44
8.	Referencias.....	45

1. Resumen y abstract

1.1. Resumen

Introducción y objetivos: El reflujo faringolaríngeo (RFL) es una afección inflamatoria de la vía aerodigestiva superior, debido al movimiento retrógrado del contenido gastrointestinal, caracterizado por la presencia de síntomas, signos y afectaciones tisulares. El objetivo es valorar la utilidad del test de pepsina en saliva (Peptest) para el diagnóstico de esta enfermedad.

Materiales y métodos: Se realizó una revisión bibliográfica de la literatura referente al estudio en diversas bases de datos seleccionando, finalmente, 12 estudios. Se obtuvieron datos estadísticos sobre la validez del Peptest de manera individual, sobre sus características (en cuanto a punto de corte, toma de la muestra y concentración) y sobre los resultados comparados con otros métodos diagnósticos del RFL.

Resultados: El porcentaje de Peptest positivos varió entre 63% y 73% en pacientes con RSI > 13, mientras que en los pacientes con RFS > 7 osciló entre 78% y 94%. La combinación de ambos parámetros (RSI > 13 y RFS > 7) obtuvo porcentajes más elevados. Además, entre los sujetos que se presenciaron un episodio objetivo de reflujo registrado mediante la pH-metría de 24 horas, entre un 68% y 85% obtuvieron un resultado positivo en el Peptest.

Conclusión: El Peptest podría ser una herramienta útil en la orientación diagnóstica del RFL añadida a otras técnicas diagnósticas de esta patología, dadas sus características (no invasiva, económica y sencilla). No se ha objetivado el mejor momento para la recogida de la muestra, como tampoco el valor de corte óptimo de pepsina para el Peptest.

PALABRAS CLAVE: Reflujo faringolaríngeo, reflujo gastroesofágico, pepsina, saliva, Peptest.

1.2. Abstract

Introduction and objectives: Laryngopharyngeal reflux (LPR) is an inflammatory condition of the upper aerodigestive tract, due to retrograde movement of gastrointestinal contents, characterised by the presence of symptoms, signs and tissue involvement. The aim is to assess the usefulness of the pepsin test in saliva (Peptest) for the diagnosis of this disease.

Materials and methods: A systematic literature review was carried out in several databases, finally selecting 12 studies. Statistical data were obtained on the validity of the Peptest individually, on its characteristics (in terms of cut-off point, sampling and concentration) and on the results compared with other LPR diagnostic methods.

Results: The percentage of positive Peptest ranged from 63% to 73% in patients with RSI > 13, while in patients with RFS > 7 it ranged from 78% to 94%. The combination of both parameters (RSI > 13 and RFS > 7) had higher percentages. In addition, among subjects who witnessed an objective reflux episode recorded by 24-hour pH-metry, between 68% and 85% had a positive Peptest result.

Conclusion: The Peptest could be a useful tool in the diagnostic orientation of LPR in addition to other diagnostic techniques for this disease, given its characteristics (non-invasive, inexpensive and simple). The best time for sample collection has not been settled, nor has the optimal cut-off value of pepsin for the Peptest.

KEY WORDS: Laryngopharyngeal reflux, gastroesophageal reflux, pepsin, saliva, Peptest.

2. Introducción

2.1. Justificación del estudio

El reflujo faringolaríngeo (RFL) es el motivo de aproximadamente el 10% de las consultas de otorrinolaringología (ORL) (1). Existe cierta dificultad a la hora de diagnosticar esta patología, dado que, existen ciertas similitudes clínicas con el reflujo gastroesofágico (RGE) que pueden generar dudas en cuanto a la orientación diagnóstica (2). Asimismo, en la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) existe una prueba, la pH-metría de 24 horas, que es considerada prueba de oro para esta enfermedad; mientras que, para el RFL no se posee una prueba de referencia y el diagnóstico queda confiado, en la mayor parte de los casos, al juicio clínico (el índice de síntomas o el índice de hallazgos en la rinofibrolaringoscopia, así como la pH-metría supraglótica) y al tratamiento empírico con medicamentos antirreflujo (3).

La mayor parte de las investigaciones recientes apuntan al papel de la pepsina como agente causante de la sintomatología típica en el RFL(4). El problema radica en que existen grandes dificultades a la hora de seleccionar un método diagnóstico útil, ya que las pruebas que han sido testadas durante años no presentan resultados lo suficientemente significativos. Al mismo tiempo, se trata de una serie de pruebas que demandan amplios conocimientos para su correcta interpretación, son económicamente poco asequibles y requieren de técnicas invasivas(5).

Por lo tanto, el propósito del presente estudio es conocer el papel de la pepsina en el RFL y, sobre todo, valorar la capacidad del Peptest (prueba no invasiva, sencilla, barata y de fácil interpretación) como método diagnóstico. De este modo, se podría reducir la repercusión que genera realizar una prueba invasiva en un paciente y la cantidad de tratamientos empíricos que son prescritos sin evidencia suficiente (6,7).

2.2. Definición

El RFL es una afección inflamatoria del tracto aerodigestivo superior relacionada con los efectos, tanto directos como indirectos, del reflujo del contenido gástrico y duodenal (8). Se caracteriza por la presencia de signos, síntomas y afectaciones tisulares como consecuencia del movimiento retrógrado del contenido gastrointestinal (ácido, bilis y enzimas como la pepsina) hacia la laringe, orofaringe y nasofaringe (9). Con el auge en las publicaciones sobre este tema, las definiciones han ido evolucionando y recogiendo aspectos que hace años no incluían, como es la definición dada en por la *American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* en 2002 donde no se tenía en cuenta el posible origen multifactorial de algunos síntomas provocado por una respuesta vagal compensatoria (2).

Por otro lado, el término reflujo es proveniente del latín y significa “de regreso” o “de vuelta”. Es por esto, por lo que podríamos definir el RGE como el flujo retrógrado del contenido gástrico hacia el esófago. Se trata de un fenómeno fisiológico, en el que se acepta como suceso dentro de la normalidad que se registren alrededor de unos 50 episodios de reflujo al día (la mayoría tras la ingesta de alimentos) (10). Se cataloga ERGE cuando este fenómeno se produce de manera excesiva causando sintomatología como pirosis y regurgitación debido al daño provocado en el tejido esofágico (10,11).

A pesar de que se puede observar ciertas similitudes entre el RFL y RGE, existen al mismo tiempo características que demuestran que estamos ante dos patologías distintas (9). La principal discrepancia clínica entre ambos reflujos es la presencia de esofagitis o de su síntoma primario, la pirosis. La mayor parte de los pacientes con RFL no presentan esta característica (tan solo el 25% tienen esofagitis y en torno al 40% acidez); sin embargo, este es el síntoma cardinal para el diagnóstico clínico del RGE (2,11).

En la siguiente tabla se puede observar algunas de las diferencias que pueden ser encontradas entre ambas patologías:

	RFL	RGE
Comportamiento	Principalmente de pie Periodos cortos de exposición ácida	Decúbito supino Periodos largos de exposición ácida
Fisiopatología	Disfunción del EES Motilidad esofágica normal	Disfunción de EEI Alteración de la motilidad esofágica
Clínica	Síntomas ORL No relación con pHmetría	Síntomas esofágicos Correlación con pHmetría
Respuesta al tratamiento	Impredecible	Satisfactoria

Tabla 1: Principales características entre el RFL y el RGE (12)

La falta de unos criterios aprobados internacionalmente para el diagnóstico de la ERGE es un gran problema a la hora de realizar una estimación epidemiológica de la enfermedad. Sin embargo, Dent J *et al* realizó una revisión de 15 estudios en los que analizó la prevalencia de la ERGE y concluyó que la prevalencia de esta es del 10% al 20% en occidente y entorno al 5% en Asia(13).

2.3. Etiopatogenia

La etiología del ERGE se debe a un desequilibrio en la mucosa esofágica entre factores defensivos y factores agresivos, lo que hace que hablemos de una entidad de etiopatogenia multifactorial (2).

2.3.1. Factores defensivos

Tienen como función prevenir el paso del contenido gástrico hacia el esófago, mediante una serie de medidas que componen lo que llamamos la “barrera anti-reflujo” (14). El esfínter esofágico inferior (EEI), cuya contracción a través de estímulos fisiológicos es esencial para impedir el paso del flujo en dirección ascendente, y el esfínter esofágico superior (EES) forman parte de ella. Además, el aclaramiento esofágico y la resistencia de la mucosa son dos mecanismos por

los que el organismo neutraliza el contenido ácido (14). También existen unos mecanismos defensivos otorrinolaringológicos que mediante una serie de acciones tratarán de impedir ese flujo retrógrado hacia el esófago. Estas acciones son: el aumento de la presión del EES, un aumento notorio de la salivación y la deglución, el espasmo glótico y la producción de tos (15).

2.3.2. Factores agresivos

La acción lesiva provocada por el reflujo va a depender de una serie de características como son, por un lado, la cantidad de volumen y la naturaleza del contenido refluído (pudiendo ser ácido, pepsina o bilis, entre otras); y, por otro lado, el tiempo que va a permanecer en contacto dicho material con la mucosa esofágica (14).

AGENTE	MECANISMO	IMPLICACIÓN
Pepsina	Directo → Proteólisis	
Ácido	Directo → Quemadura	Junto a la pepsina (90%)
Bilis	Directo → Acción detergente	Nunca sin ácido
Tripsina	Directo → Proteólisis	Nunca sin ácido

Tabla 2: Agentes patógenos en el RGE (15)

Existen una serie de mecanismos responsables de la disfunción de la “barrera anti-reflujo” a través de los cuales se favorece el paso de los agentes mencionados anteriormente en dirección ascendente. Los episodios de relajación transitoria del EEI o la hipotonía de este, junto a alteraciones tanto en el vaciamiento esofágico como en el vaciamiento gástrico; son los mecanismos a los que se les presupone dicha responsabilidad (16).

Además, se deben tener en cuenta los factores anatómicos que pueden influir en la producción del RGE. Cabe mencionar que la hernia de hiato podría estar relacionada con la presencia de un EEI hipotónico, dificultando el aclaramiento esofágico (14). El soporte extrínseco del diafragma crural y el segmento intraabdominal del esófago son dos factores anatómicos que influyen de manera importante sobre el EEI (16).

2.4. Fisiopatogenia

Los mecanismos de acción que provocan que el reflujo cause tales efectos son los siguientes:

- Contacto directo del material refluído sobre la mucosa esofágica.
- Mecanismo indirecto del reflejo esófago-bronquial-laríngeo.
- Factores quimiorreflejos de la faringe y laringe.

El contacto directo del contenido refluído, de características nocivas, acaba provocando la lesión de la mucosa debido a un continuo contacto de esta con un medio ácido y cargado de pepsina (11). Esto es debido a la carencia de peristaltismo por parte de la faringe y la laringe, quedando expuestas largos periodos a pH más bajos de lo que acostumbran (11). Además, la respuesta por parte del órgano diana será de características diferentes según el individuo debido a unos mecanismos inmunoalérgicos. Por lo tanto, la capacidad de la lesión dependerá de la susceptibilidad de cada individuo (17).

Se ha observado que la pepsina podría dañar y atravesar el moco protector del epitelio respiratorio, produciendo una acción citolítica con alteración de los reguladores del crecimiento del epitelio (18). Además, se producirán las siguientes modificaciones:

- Disminución de la concentración de la isoenzima III de la anhidrasa carbónica (CAH III). Esta enzima es la encargada de mantener el balance de pH, dado que, cataliza la hidratación reversible del dióxido de carbono produciendo iones bicarbonato, que son bombeados al espacio extracelular donde neutralizan el reflujo gástrico (18).
- Disminución de la expresión de la proteína de estrés Sep70. Esta proteína de estrés del epitelio escamoso ha sido observada jugando un papel importante dentro de la respuesta al estrés mediada por ácido, y estrechamente relacionada su disminución con la presencia de pepsina en la laringe (19).

- Alteración de las E-cadherinas que intervienen en la cohesión intercelular epitelial y que podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer de laringe (17).

Todos estos argumentos hacen pensar en la amplia relación que existe entre la presencia de pepsina y el daño que sufre la mucosa en el RFL, dando lugar a: úlceras de contacto, granulomas de contacto y eritemas tanto glóticos como vestibulares (20).

La activación del reflejo esófago-bronquial-laríngeo (mecanismo indirecto) tiene su comienzo por la irritación del tercio inferior del esófago que desencadena un reflejo de mediación vagal. Posteriormente, se produce una liberación de sustancias inflamatorias y broncoconstrictoras en la vía aérea inferior que parecen estar mediados por un estímulo parietal esofágico inferior y por un reflejo del nervio vago. Este reflejo neurovegetativo podría ser el desencadenante de la tos crónica, el asma y el espasmo glótico (20).

Con respecto a los factores quimiorreflejos, la laringe posee una gran capa neural con mucha sensibilidad para la detección de agentes extraños que se protege mediante la activación del reflejo de la tos, actuando así como “esfínter de la vía aérea”. Aviv JE *et al* (21) observó en uno de sus estudios un posible déficit sensitivo acompañado de una alteración de la motricidad faringo-esofágica, que podrían ser los causantes de diversas enfermedades inflamatorias crónicas debido a una estasis salival a nivel hipofaríngeo(21).

2.5. Síntomas y signos

En cuanto a los síntomas estrictamente digestivos, el principal síntoma de la ERGE es la pirosis (presentada por el 40% de los pacientes), es decir, esa sensación de ardor o quemazón que asciende por el espacio retroesternal. Esta sintomatología típicamente observada en pacientes con esofagitis es fundamental para la orientación diagnóstica entre esta enfermedad y el RFL(2).

La ERGE presenta además una serie de síntomas y signos extradigestivos que son recogidos en la siguiente tabla del Grupo de Consenso de Montreal 2006:

PROCESOS PULMONARES	PROCESOS ORL	PROCESOS DE LA CAVIDAD ORAL
Asma	Faringitis crónica	Erosiones dentales
Fibrosis pulmonar	Disfonía → 90%	Quemazón de boca
Estridor/Crup	Tos crónica → 52%	Úlceras en cavidad oral
EPOC	Carraspeo → 41 %	Halitosis
Neumonía	Disfagia → 35%	Pérdida de gusto
	Sensación de globo → 33%	
	Úlceras/granulomas de cuerdas vocales	
	Estridor/Laringoespasmo	
	Estenosis laríngea y traqueal	
	Cáncer de laringe	

Tabla 3: Síntomas y signos extradigestivos según el Consenso de Montreal 2006 (22).

Como se puede observar, el síntoma cardinal de los procesos ORL es la disfonía, que normalmente cursa con fatiga vocal, carraspeo y suele existir cierta relación con el Edema de Reinke(22). Con respecto a la tos, que suele superar las 3 semanas de duración, se pueden discernir 2 mecanismos fisiopatológicos: irritación del esófago a través del nervio vago con respuesta esófago-traqueo-bronquial e irritación de la mucosa de faringe posterior, nariz y senos a través de vías del glosofaríngeo y trigémino que finalizan en el centro de la tos(22). La tos a su vez, mediante el aumento de la presión transdiafragmática, puede contribuir a la aparición de RGE(23).

La importancia de una buena anamnesis para poder conseguir una historia clínica completa es esencial en el diagnóstico del RFL, dado que estos pacientes no

presentan la sintomatología clásica que expresan los pacientes con ERGE(24). En concreto, ha sido demostrado que en los pacientes con RFL la incidencia de epigastralgia es menor al 40% y de esofagitis menor al 25%(11). Dentro del cuadro clínico típico del RFL, existe una amplia diversidad de signos y síntomas de enfermedades ORL como, por ejemplo: la disfonía (uno de los síntomas principales y presente en el 71% de los casos), la tos seca (que puede llegar a cronificar, llegado al extremo de volverse incapacitante y se encuentra en el 51% de los pacientes), carraspeo (42% de los casos), globo faríngeo (37% de los casos) y disfagia (35% de los casos). Además, se puede observar otra sintomatología menos común como las secreciones en hipofaringe, el espasmo laríngeo o la odinofagia de ardor(23,25).

En la siguiente tabla se muestran las diferencias más significativas entre el paciente con RFL y el paciente con ERGE:

	ERGE	RFL
Síntomas		
Pirosis y/o regurgitaciones	+++++	
Disfonia, disfagia, globo faríngeo, etc	+	++++
Hallazgos		
Esofagitis endoscópica	+++++	
Inflamación laríngea	+	++++
Diagnóstico		
Biopsia de Esófago (Inflamación)	+++++	
Radiografía de esófago anormal	++	
Monitorización anormal de pH esofageal	+++++	
Monitorización anormal de pH faríngeo		+++
Patrón del reflujo		
Supino (nocturno)	+++++	
En pie (durante el día)	+	++++
Respuesta al tratamiento		
Dieta/modificación de estilos de vida	++	+
Antagonistas Histamina2	+++	++
Inhibidores de la bomba de protones	++++++	

Tabla 4: Diferencias más significativas entre el paciente con RFL y el paciente con ERGE (26)

2.6. Métodos diagnósticos

En la actualidad, no existe evidencia suficientemente significativa para seleccionar alguna de las pruebas que serán explicadas a continuación, como patrón de oro para el diagnóstico del RFL (3). Este es uno de los motivos principales por los que se está realizando este estudio, ya que se siguen investigando diferentes ventanas diagnósticas con el fin de poder obtener una prueba totalmente fiable y con las características idóneas para el paciente. Debido a esto, el algoritmo diagnóstico utilizado hoy en día en la práctica diaria hospitalaria es una combinación de tres pruebas: la identificación de los síntomas realizada a través de un cuestionario denominado *Reflux Symptom Index* (RSI), la valoración de los hallazgos endoscópicos mediante el *Reflux Finding Score* (RFS) para determinar si existen cambios estructurales en la laringe o sus zonas contiguas y el test de tratamiento empírico con Inhibidores de la Bomba de Protones (IBPs)(27).

2.6.1. *Reflux Symptoms Index* (RSI)

El RSI es un cuestionario para la evaluación de la severidad de los síntomas laríngeos, que normalmente es cumplimentado por el paciente donde nueve ítems son incluidos. Cada ítem será valorado mediante una escala del cero (ningún problema) al cinco (problema grave), pudiendo obtener una puntuación máxima de 45. El cuestionario es considerado patológico cuando se obtiene una puntuación mayor o igual a trece, indicando que el paciente es susceptible de padecer RFL(28). A continuación, se muestran todos los ítems que se incluyen en el cuestionario.

1. Ronquera o algún problema con su voz	0	1	2	3	4	5
2. Aclarar su garganta	0	1	2	3	4	5
3. Exceso de moco en la garganta o sensación de goteo posnasal	0	1	2	3	4	5
4. Dificultad al tragar alimento, líquido o píldoras	0	1	2	3	4	5
5. Tos después de comer o al acostarse	0	1	2	3	4	5
6. Dificultad para respirar o atragantamiento	0	1	2	3	4	5
7. Tos que causa problema o muy molesta	0	1	2	3	4	5
8. Sensación de algo pegajoso o de cuerpo extraño en la garganta	0	1	2	3	4	5
9. Dolor en el tórax, indigestión o sensación de ácido estomacal en la garganta	0	1	2	3	4	5
Total						

Tabla 5: *Reflux Symptoms Index* (RSI) (29).

2.6.2. Reflux Finding Score (RFS)

El RFS consta de siete ítems valorados a través de una rinofibrolaringoscopia donde se valoran una serie de signos endoscópicos laríngeos que cuantifican las lesiones inflamatorias sugestivas de RFL. La obtención de un resultado mayor a siete en esta prueba es considerado patológico y, por lo tanto, indica que existe un resultado sugestivo con la enfermedad(30).

Edema subglótico (pseudosulcus)	0 = ausente 2 = presente
Obliteración ventricular	0 = ausente 2 = presente 4 = completo
Eritema/hiperemia	0 = ausente 2 = solo en los aritenoides 4 = difuso
Edema de cuerda vocal	0 = ausente 1 = leve 2 = moderado 3 = severo 4 = polipode
Edema laríngeo difuso	0 = ausente 1 = leve 2 = moderado 3 = severo 4 = obstrucción
Hipertrofia comisura posterior	0 = ausente 1 = leve 2 = moderado 3 = severo 4 = obstrucción
Granuloma/tejido de granulación	0 = ausente 2 = presente
Moco espeso endolaríngeo	0 = ausente 2 = presente
Total	

Tabla 6: *Reflux Finding Score (RFS)* (30).

2.6.3. Test de tratamiento empírico con IBPs

Otra de las motivaciones para realización del presente estudio cabe ser mencionada en este apartado, dado que uno de los objetivos de este es la búsqueda de una prueba que no sea invasiva para el diagnóstico de la patología. Esta motivación es muy similar a la que tienen los especialistas que toman la decisión de iniciar la terapia empírica con IBPs, junto a una modificación del estilo de vida y el comienzo de una dieta. La decisión se toma a través de una sospecha clínica basada en una serie de síntomas y signos que son los que más frecuentemente presentan estos pacientes; y cuya finalidad es evitar el uso de la doble monitorización de pH (prueba invasiva y no estandarizada). Aun así, esta prueba tampoco presenta excesiva garantía diagnóstica, aunque si es cierto que existe mejoría debido al efecto placebo de la toma de estos medicamentos(6).

Con las tres pruebas explicadas se obtiene una amplia visión de lo que son las primeras pinceladas en el diagnóstico diferencial de la enfermedad. Sin embargo, es necesaria previamente una exhaustiva anamnesis del paciente junto a una exploración ORL para ir aproximándonos al posible diagnóstico(27). Además, se pueden realizar una telelaringoscopia y una estroboscopia laríngea con el objetivo de encontrar ciertos hallazgos compatibles con el RFL como son: pseudosulcus (90%), secreciones espesas en glotis, bordes libres irregulares, granulomas, úlceras, estenosis glótica y subglótica, o movimiento paradójico de pliegues vocales(28). Sin embargo, todos estos signos son muy inespecíficos y pueden ser presentados por diferentes personas sanas sin sintomatología asociada (31). Aun así, según un estudio realizado por Ahmed T *et al* (32), el signo clínico más utilizado para diagnosticar la laringitis posterior (laringitis por reflujo) mediante estas técnicas es el eritema y el edema de laringe(32).

2.6.4. Hypopharyngeal-Esophageal Multichannel Intraluminal Impedance-pH (HEMII-pH)

La prueba HEMII-pH, conocida en castellano como pH-metría ambulatoria de 24 horas, es considerada la prueba de oro para el diagnóstico de la ERGE aunque posee una baja sensibilidad en los pacientes con endoscopias digestivas negativas. Además, aunque no existe una prueba de referencia para el diagnóstico del RFL, esta prueba también se considera el método diagnóstico principal de la enfermedad(33). El HEMII-pH es capaz de detectar el movimiento del contenido esofágico midiendo los cambios en la resistencia eléctrica. Esta novedosa prueba registra la monitorización del pH gracias a una serie de electrodos colocados en el extremo distal y varios por encima de este (normalmente 3, 5, 7, 9, 15 y 17 centímetros por encima del extremo) (Figura 1) . Esto discierne de la pH-metría clásica donde tan solo se utilizaban 2 electrodos separados por una distancia de 15 centímetros (cm): uno a 5 cm del EEI y el otro a 1-2 cm del EES (Figura 2)(34).

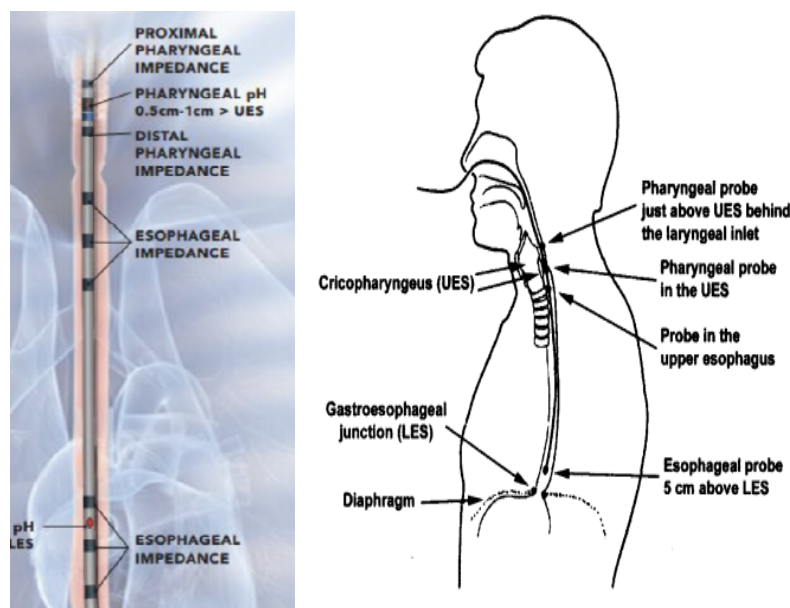


Figura 1 y Figura 2: Diferencias en la posición de los electrodos entre el HEMII-pH y la pH-metría clásica (33,34).

El desarrollo del HEMII-pH ha generado diferentes ventajas sobre la anterior prueba; dado que esta puede detectar partículas líquidas y gaseosas, registra los cambios secuenciales en la impedancia a través de la sonda y puede diferenciar el

tipo de reflujo en ácido, no ácido o mixto (suponiendo un gran avance ya que se está estudiando la resistencia de los IBPs cuando se trata de un reflujo no ácido)(35). A pesar de estos avances, existen también una serie de desventajas como, por ejemplo; la duración de la prueba (24 horas), dado que de un día para el otro los resultados pueden ser muy variables, o el no tener unos criterios estandarizados para la interpretación común de los resultados(33,36).

2.6.5. Monitorización del pH orofaríngeo (Restech Dx-pH)

Debido a las limitaciones que han surgido a lo largo del tiempo con las diferentes técnicas para la medición del pH ya explicadas, los investigadores tratan de resolver estos sesgos a través de la búsqueda de nuevos métodos para el diagnóstico del RFL. Este es el caso del Restech Dx-pH, un dispositivo de monitorización del pH orofaríngeo e hipofaríngeo, en contraposición de otros más antiguos donde la monitorización era del pH esofágico proximal (37). Diversos estudios en los que se ha comparado esta prueba con otras de monitorización esofágica de pH, han observado como existe una correlación entre los episodios de reflujo que se registran en el esófago y los registrados en la faringe, debido a un desplazamiento en dirección ascendente del contenido refluído(38). A pesar de que tampoco existen unos criterios estandarizados para el diagnóstico, tal y como ocurre en el HEMII-pH, si es cierto que en esta prueba se suelen establecer los siguientes valores como punto de corte según el Ryan Score: > 9,4 (en bipedestación) o > 6,8 (en decúbito supino)(39).

2.7. Test de pepsina en saliva (Peptest)

El objetivo principal del presente estudio es encontrar una prueba sencilla, económica, de fácil interpretación y no invasiva para el diagnóstico del RFL. Por lo tanto, esta es la prueba que reúne dichas características y la que supone el eje central diagnóstico en nuestro estudio(7).

La pepsina es una enzima que se secreta al jugo gástrico, que posteriormente refluirá ascendentemente de manera patológica llegando a alcanzar el esófago proximal y la orofaringe, entre otras estructuras. Debido a esto, la pepsina es considerada como un buen marcador del RFL(40). A lo largo de los años, diferentes métodos (como los ensayos enzimáticos, la inmunohistoquímica, el Western Blot o ELISA) han sido utilizados para determinar la presencia de pepsina en saliva y su concentración. Además de no haber demostrado una sensibilidad y especificidad lo bastante significativas, todas estas pruebas requieren tiempo para la obtención de los resultados y es necesario un conocimiento técnico de la prueba(7).

El Peptest es un método inmunológico *in vitro*, en forma de prueba de flujo lateral, que permite la detección rápida de pepsina en una muestra salival de un paciente mediante el uso de dos anticuerpos monoclonales específicos contra la pepsina humana. Los pacientes deberán enjuagarse la boca antes de recoger la muestra de saliva en un tubo estéril de 30 mL que contiene 0,5 mL de ácido cítrico 0,01M (pH entre 2,2 y 2,8), que deberá ser agitada, mezclada y conservada en frío en el laboratorio. A continuación, la muestra es centrifugada (a 4000-7000 revoluciones por minuto / 2500 gramos, durante 5 minutos), extrayéndose 80 µl de la capa flotante que serán vertidos en un tubo con 240 µl de solución buffer de migración y posteriormente mezclados mediante un agitador Vortex(41). En estos instantes la muestra está lista para que se depositen 80 µl de esta en el Peptest y observar los resultados en la ventana de visualización del dispositivo. Tras 15 minutos, se observará una ligera línea azul en el lugar donde se encuentra la “C” (Control) que indicará que la prueba ha sido realizada correctamente. Además, la presencia de otra línea azul en la zona donde está la “T” (Test) indicará la existencia de una concentración de pepsina en dicha muestra mayor a 16 ng/mL, queriendo decir que se encuentra ante un Peptest positivo(7,41).



Figura 3: Ejemplo de test de pepsina en saliva (Peptest) positivo (42).

2.8. Tratamiento

Las recomendaciones actuales van dirigidas hacia la limitación del tratamiento empírico con medicamentos antirreflujo para pacientes con disfonía. Se busca limitar el uso indiscriminado de IBPs, antagonistas de receptores H2 (anti-H2) y antiácidos; debido a la escasa evidencia sobre su beneficio y a sus conocidos efectos adversos (43). El algoritmo médico va encaminado a controlar la sintomatología inflamatoria laríngea mediante una serie de medidas:

- En primer lugar, una modificación de la dieta evitando la ingesta de bebidas alcohólicas, café, chocolates, cítricos y productos picantes; y reduciendo el peso en los casos que el médico lo considere oportuno (44).
- También es de gran importancia que se lleven a cabo una serie de modificaciones en el estilo de vida como el abandono del tabaco o beber una cantidad abundante de agua durante el ejercicio físico evitando una excesiva distensión del estómago. Además, es recomendable seguir unas cuantas medidas antirreflujo con el fin de prevenir episodios de reflujo. Elevar con un taco de madera la cabecera de la cama, no realizar siestas tras la comida, esperar alrededor de unas tres horas para irse a dormir desde la hora de la cena, acostarse en decúbito lateral izquierdo o evitar el uso de fajas; son ejemplos de estas medidas favorables para los pacientes (45).

A pesar de la dirección tomada por los especialistas en este ámbito, existen guías terapéuticas que recomiendan el tratamiento empírico con IBPs en pacientes con síntomas compatibles con el RFL (a través de una valoración estándar) y con hallazgos endoscópicos susceptibles (44). A través de esta medida terapéutica se observa la relación que existe entre el reflujo y los síntomas, ya que la toma de dos IBPs al día durante dos o tres meses puede erradicar la sintomatología que padece cada paciente. En el caso del RFL, se ha observado que es necesario un tratamiento más prolongado y agresivo que podría mejorar los síntomas en un tiempo aproximado de tres meses, pero en cuanto al progreso de lesiones de la faringe serían necesarios alrededor de seis meses (2,24).

Tras el periodo transcurrido con esta medida terapéutica, se pueden dar varias situaciones (46,47):

- Una respuesta adecuada al tratamiento que desencadenará en un mantenimiento del IBP durante seis meses con disminución de la dosis progresivamente.
- Que el paciente tenga una respuesta inadecuada donde se deberá aumentar la dosis del IBP, cambiar la molécula, añadir algún anti-H2 (Ranitidina) o combinar con alginatos.
- La causa de los síntomas no sea el reflujo y será necesaria la realización de una pH-metría de 24 horas con la intención de valorar la capacidad del IBP en la supresión de la secreción ácida.

Como última medida, la cirugía puede ser valorada, aunque no todos los pacientes son candidatos a ello. Aquellos con defectos estructurales que puedan ser corregidos y en los que se demuestra una respuesta adecuada ante la terapia antisecretora, serán los que tendrán mayor probabilidad para ello (46).

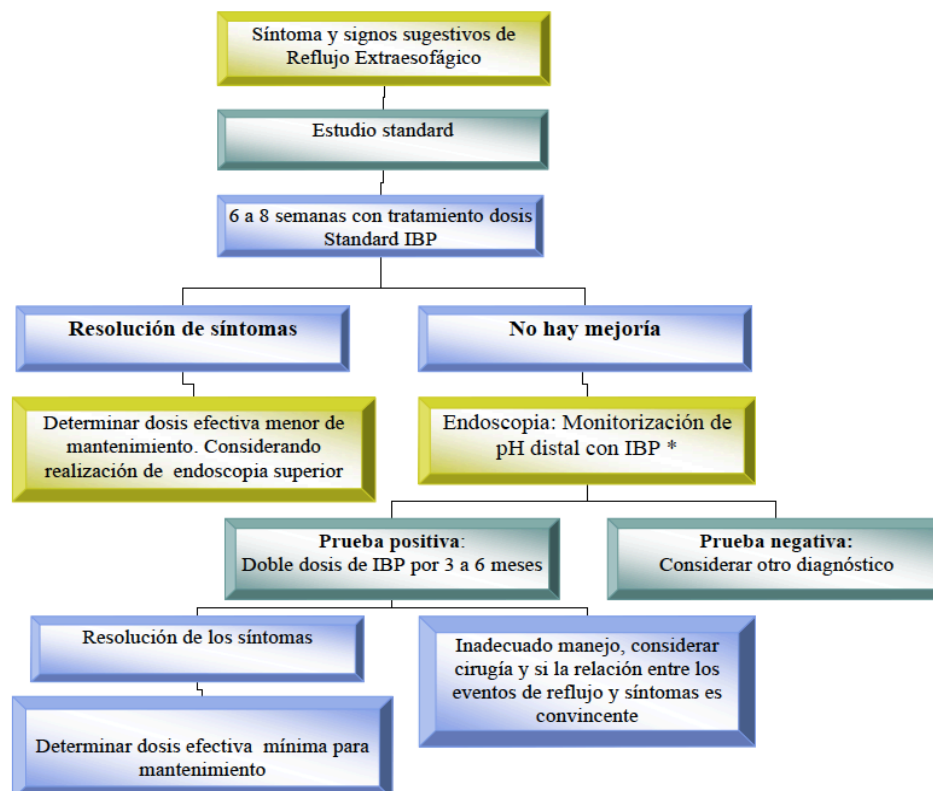


Figura 4: Algoritmo terapéutico habitual (48).

3. Objetivos

3.1. Objetivo principal

- Valorar la utilidad del test de pepsina en saliva (Peptest) para el diagnóstico del RFL; como método útil, no invasivo, sencillo y económico.

3.2. Objetivos específicos

- Analizar el papel que posee la pepsina en la patogenia del RFL.
- Comparar la validez del test de pepsina en saliva (Peptest) para el diagnóstico del RFL con otras pruebas diagnósticas como: el RSI, el RFS y el HEMII-pH.
- Examinar la influencia diagnóstica de la concentración de pepsina, el punto de corte óptimo para el Peptest y el mejor momento del día para tomar la muestra.

4. Materiales y métodos

4.1. Estrategia de búsqueda

Con la finalidad de lograr el objetivo planteado, se realizó una revisión bibliográfica en las siguientes bases de datos: Pubmed, Medline, Cochrane Library y Google Academic. En la búsqueda se incluyeron estudios en inglés y castellano publicados desde el 2003 hasta la actualidad.

Los siguientes términos fueron los empleados en la búsqueda: "laryngopharyngeal reflux" OR "extraesophageal reflux" OR "supraesophageal reflux" AND "pepsin".

4.2. Método de selección de los estudios

Tras la búsqueda de artículos en las bases de datos ya citadas, se obtuvo un total de 318 artículos. Con el objetivo de conocer la evolución temporal tanto de la patología de nuestro estudio como de las técnicas diagnóstica, en concreto, del

Peptest; se decidió hacer una búsqueda de las publicaciones desde el 2003 hasta la actualidad.

En primer lugar, 83 artículos fueron descartados debido a que se encontraban duplicados entre las diferentes bases de datos en las que se realizó la búsqueda. Tras la revisión de estos artículos por Título y Abstract se descartaron otros 93 artículos, ya que muchos de estos se centraban en otros temas o no se aproximaban al objetivo específico del presente estudio. Con los 142 artículos restantes, los criterios de inclusión y exclusión, que posteriormente serán determinados, fueron aplicados con el fin de cercar la búsqueda exactamente a aquello que pretendía ser evaluado. De este modo, 12 artículos fueron los seleccionados y, por lo tanto, aquellos de los que se abstraerán los resultados y serán la base de la posterior discusión.

4.3. Criterios de inclusión y exclusión

Los siguientes criterios de inclusión y exclusión son aquellos que fueron tenidos en cuenta a la hora de realizar la selección de los artículos:

- Criterios de inclusión:
 - Artículos escritos en castellano o inglés.
 - Artículos que pudiesen ser obtenidos con el texto completo.
 - Artículos publicados desde el 2003 hasta la fecha actual.
 - Artículos donde los sujetos seleccionados para el estudio fueran mayores de edad.
 - Artículos donde los ensayos fuesen realizados en seres humanos.
 - Artículos en los que se estudie el Peptest exclusivamente como método diagnóstico del RFL.
 - Artículos en los que estudien varias técnicas diagnósticas del RFL entre las que siempre se encontrará el Peptest.
 - Artículos que incluyan determinaciones de pepsina obtenidas a través de muestras de saliva (mediante Peptest).

- Criterios de exclusión:
 - Artículos que estuviesen duplicados.
 - Artículos que ya fuesen revisiones bibliográficas o metaanálisis.
 - Artículos en los que no se incluyan datos suficientes para el objetivo del presente estudio.
 - Artículos donde la determinación de la pepsina se haya realizado mediante técnicas invasivas (inmunohistoquímica o Western Blot), o mediante ELISA.
 - Artículos cuyos ensayos presenten pacientes con cirugías previas gástricas, esofágicas, laríngeas o faríngeas.
 - Artículos en los que los pacientes incluidos en el estudio presenten neoplasias, tanto otorrinolaringológicas como gastro-esofágicas.

4.4. Variables analizadas

Se evaluó la capacidad y fiabilidad diagnóstica que puede llegar a tener la prueba de determinación de pepsina en saliva (Peptest) en el diagnóstico del RFL. En algunos artículos, se pudo valorar el objetivo de la presente revisión comparando los resultados obtenidos mediante el Peptest con diferentes técnicas como, por ejemplo, la prueba de Dx-pH o el HEMII-pH de 24 horas. Por otro lado, se analizaron artículos en los que el Peptest se evaluaba individualmente y donde se pudieron extraer resultados con relación a las discrepancias en los valores de pepsina según el momento en el que es tomada la muestra (en ayunas, después de las ingestas o tras sintomatología). Diferentes datos estadísticos; como la sensibilidad, especificidad y valores predictivos, también fueron evaluados. Con todo esto, se intentó reflexionar sobre la validez del Peptest en el diagnóstico del RFL.

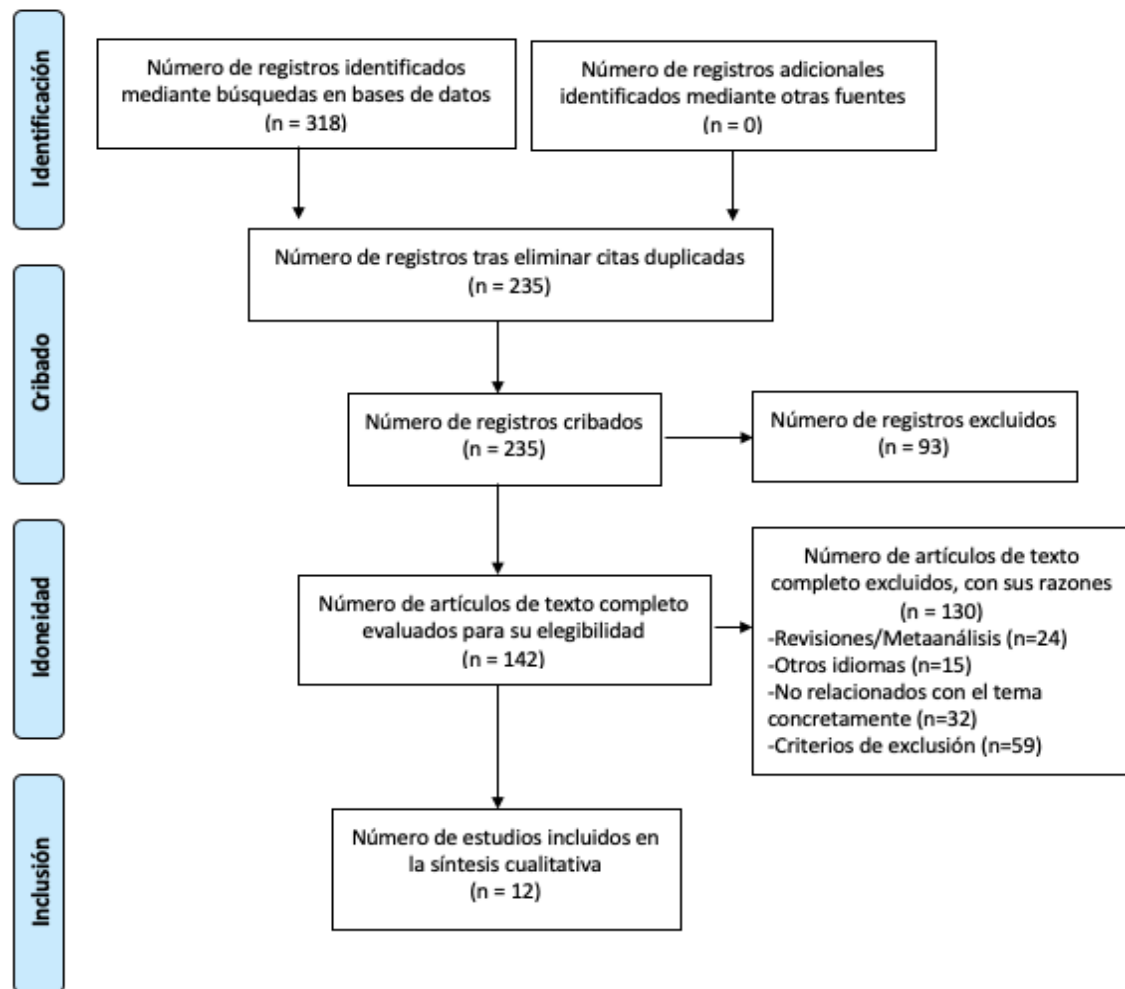


Figura 5: Diagrama de flujo.

5. Resultados

Un total de 12 artículos fueron los que finalmente cumplieron los criterios de inclusión y los que serán analizados en este apartado. La tabla mostrada a continuación resume los artículos que han sido seleccionados y el año de su publicación.

ARTÍCULO	AÑO DE PUBLICACIÓN
Hayat JO et al	2014
Ocak E et al	2015
Spyridoulas A et al	2015
Yadlapati R et al	2016
Barona-Lleó L et al	2017
Barona-Lleó L et al	2018
Bor S et al	2019
Bozzani A et al	2019
Weitzendorfer M et al	2019
Divakaran S et al	2020
Lechien JR et al	2020
Zhang M et al	2020

Tabla 7: Artículos incluidos en el estudio.

“Pepsin and Oropharyngeal pH monitoring to diagnose patients with laryngopharyngeal reflux” de Weitzendorfer M *et al* (49).

El siguiente estudio de cohortes prospectivo incluyó 70 pacientes con la finalidad de comparar la precisión diagnóstica de la pepsina en saliva con la monitorización orofaríngea de pH (Dx-pH) en los pacientes con RFL. Las muestras de pepsina fueron recogidas en ayunas, una hora después de la comida y una hora tras la cena. La media de las 3 muestras es la utilizada para el posterior análisis estadístico.

Los sujetos fueron diferenciados en dos grupos: grupo RFL (puntuación patológica en el HEMII-pH) y grupo no-RFL (sintomatología sugestiva, pero HEMII-pH normal).

En el grupo RFL, el 85,4% (35 de 41) tuvo al menos un Peptest positivo; mientras que en el grupo no-RFL, el 72,4% (21 de 29) cualquiera de las determinaciones de pepsina fue positiva. La concentración media de pepsina fue mayor en el primer grupo (216 ng/mL) que en el grupo con un HEMII-pH normal (161 ng/mL).

La especificidad del Peptest fue del 85,4% y la sensibilidad del 27,6%, siendo el valor de corte de la pepsina el normalmente empleado en este tipo de tests (16 ng/mL). Si es cierto, que se determinó el punto de corte óptimo para el Peptest (216 ng/mL) y se obtuvo una especificidad del 86,2% y una sensibilidad del 41,5%.

En los pacientes con un resultado patológico en el HEMII-pH, se observó una correlación significativa entre los niveles de pepsina en saliva y los cuestionarios RSI, RFS y GIQLI. Además, los sujetos pertenecientes a este grupo mostraron niveles medios de pepsina más elevados, y una significativa relación entre estos valores y los resultados patológicos obtenidos en el RSI.

n = 70	DeMeester Score Pathological (%)	DeMeester Score Normal (%)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	+ve Likelihood Ratio	- ve Likelihood Ratio
At least 1 sample > 16 ng/mL	35/41 (85.4)	21/29 (72.4)	85.4	27.6	62.5	57.1	1.18	0.53
At least 1 sample > 50 ng/mL	32/41 (78.1)	17/29 (58.6)	78.1	41.4	65.3	57.1	1.33	0.53
At least 1 sample > 100 ng/mL	28/41 (68.3)	12/29 (41.4)	68.3	58.6	70.0	56.7	1.65	0.54
At least 1 sample > 150 ng/mL	22/41 (53.7)	9/29 (31.0)	53.7	69.0	71.0	51.3	1.73	0.67
At least 1 sample > 216 ng/mL	17/41 (41.5)	4/29 (13.8)	41.5	86.2	81.0	51.0	3.00	0.69

Tabla 7: Pacientes con al menos una muestra positiva según los diferentes puntos de corte para la pepsina.

“Test de pepsina en saliva: prueba útil y sencilla para el diagnóstico del reflujo faringo-laríngeo” de Barona-Lleó L *et al* (42).

El estudio fue realizado a 142 pacientes que presentaron sintomatología sugestiva de reflujo laringo-faríngeo. Fueron catalogados como pacientes sugestivos dado que obtuvieron una puntuación por encima de 13 en el RSI y no fueron diagnosticados mediante endoscopia laríngea de ninguna otra enfermedad tumoral y/o infecciosa. Además, se aseguró que ninguno de los pacientes incluidos en el estudio se encontrase en tratamiento con cualquier tipo de protector estomacal.

A todos los pacientes se les realizó una primera determinación de pepsina en saliva en ayunas, donde 75 pacientes (52,82%) dieron positivo en el test y los otros 67 (47,18%) fueron negativos. A aquellos pacientes cuyo test había sido negativo en la primera determinación, se les realizó una segunda determinación de pepsina en saliva, en este caso, pasada una hora de la comida más copiosa del día y en los que se obtuvo los siguientes resultados: test positivo en 30 sujetos (44,78%) y test negativo en los restantes 37 pacientes (55,22%).

Por lo tanto, tras la realización de ambas determinaciones de pepsina en saliva, tan solo un 26,06% de los sujetos obtuvo un resultado negativo en ambas determinaciones (37 pacientes de los 142 totales). Mientras que, el 73,94% de los sujetos dio positivo en alguna de las dos determinaciones que les fueron realizadas (105 pacientes de los 142 totales).

“Validation of Peptest in patients with gastro-esophageal reflux and laryngopharyngeal reflux undergoing impedance testing” de Bor S *et al* (50).

Se incluyeron en el estudio 10 pacientes diagnosticados de ERGE; y otros 10 pacientes que presentaban reflujo laringo-faríngeo, diagnosticados a través de una puntuación >13 en el Reflux Symptom Index y >7 en el Reflux Finding Score.

En este caso, los Peptests eran realizados 5 minutos después de que el paciente notase un síntoma compatible con el RFL o 5 minutos después de que se identificara un evento reciente de reflujo mediante el HEMII-pH.

Se recogieron un total de 23 muestras mediante Peptest en los pacientes con RFL, de las cuales 15 fueron positivas (65,2%). Además, al menos 1 prueba fue positiva en 8 de 10 sujetos (80%).

Patients	Number of samples	Positive pepsin samples	Negative pepsin samples
GERD (n=10)	22	16	2
LPR (n=10)	23	15	2
Total	45	31	4

Tabla 8: Resultados de los Peptest.

Por un lado, si el paciente notaba sintomatología compatible con el RFL, el valor predictivo positivo del Peptest era del 68,3%.

		Peptest™		
		Positive	Negative	Total
Reflux symptoms	Yes	28	13	41 (91.1%)
	No	3	1	4
	Total	31 (68.9%)	14	45

Sensitivity 90.3%, PPV = 68.3% p=1.000

Tabla 9: Relación entre los resultados en los Peptest y los síntomas del reflujo.

Por otro lado, en los casos en los que se registró un episodio objetivo de reflujo notificado mediante el HEMII-pH, el Peptest tuvo un valor predictivo positivo del 67,5%.

		Peptest™		
		Positive	Negative	Total
MII-pH reflux event	Yes	27	13	40 (88.9%)
	No	4	1	5
	Total	31	14	45

Sensitivity 87.1%, PPV = 67.5% p=1.000

Tabla 10: Relación entre los resultados en los Peptest y los episodios de reflujo registrados mediante el HEMII-pH.

Por último, se determinó mediante el HEMII-pH de 24 horas que ciertos sujetos sufrían reflujo patológico (pH<4 en >5% del tiempo o puntuación en el HEMII-pH >14,72). El 87,5% obtuvieron un resultado positivo en el Peptest.

“Laryngopharyngeal reflux: symptoms, signs, and presence of pepsin in saliva – A reliable diagnostic triad” de Divakaran S *et al* (49).

Este estudio prospectivo evaluó el valor diagnóstico de la pepsina en saliva en el diagnóstico del RFL. Se consideró sugestivo de RFL tanto una puntuación >13 en el Reflux Symptom Index, como una puntuación >7 en el Reflux Finding Score. Las

muestras de saliva se obtenían mediante Peptest una hora después de cada comida.

De los 120 sujetos incluidos en el estudio, la pepsina en saliva fue positiva en 82 de ellos (68,1%). Además, en los pacientes con positividad en los Peptest, el valor medio obtenido en el RSI y en el RFS fueron 16,61 y 9,01, respectivamente. En contraposición, valores medios más bajos (RSI de 12,14 y RFS de 7,89) fueron los calculados en los pacientes con una prueba negativa en el test.

De los 97 pacientes que fueron clasificados como grupo 1 (RFS>7), 73 de estos tuvo un Peptest positivo (73,3%); mientras que aquellos pertenecientes al grupo 2 (RSI>13) mostraron una positividad en el test del 94,4%, es decir, 68 de los 72 sujetos fueron positivos. Finalmente, se creo un tercer grupo que combinaba ambas clasificaciones (pacientes con un RFS>7 y un RSI>13), con unos resultados de positividad que alcanzaron el 95,5%, ya que de los 68 pacientes con dichas características, 65 de ellos fueron positivos en el Peptest.

	RFS > 7 N (%)		RSI > 13 N (%)		RFS > 7 & RSI > 13 N (%)	
	YES	NO	YES	NO	YES	NO
PEPSIN +	74 (76.3)	8(34.7)	68(94.4)	14(29.2)	65 (95.6)	5(26.3)
PEPSIN -	23 (23.7)	15 (65.3)	4(5.6)	34(70.8)	3 (4.4)	14(73.7)
TOTAL	97	23	72	48	68	19
Chi-squared statistic (p Value)	14.8 (<0.00019)		56.7 (<0.0001)		45.3 (<0.0001)	

Tabla 11: Análisis del chi-cuadrado entre los resultados de pepsina y varios parámetros clínicos.

“Diagnostic utility of salivary pepsin as compared with 24-hour dual pH/impedance probe in laryngopharyngeal reflux” de Zhang M *et al* (51).

Este estudio de cohortes prospectivo, con 30 pacientes incluidos en el análisis, muestra la sensibilidad, especificidad y los valores predictivos (VPP y VPN) calculados para el Peptest suponiendo que los resultados obtenidos mediante la “prueba de oro”, es decir, la prueba de 24h-HEMII-pH; son los que se utilizan como

resultados reales de referencia. El diagnóstico positivo de RFL mediante la prueba de 24h-HEMII-pH fue definido como registrar 2 o más episodios de reflujo faríngeo, o más de 5 episodios de reflujo esofágico proximal.

Los pacientes recolectaron de 3 a 5 muestras de saliva: en ayunas, 1 hora después de la comida, 1 hora después de la cena, tras experimentar un primer síntoma predominante del RFL y tras un segundo síntoma.

En comparación con los resultados positivos en la prueba de 24h-HEMII-ph, la pepsina en saliva tiene una sensibilidad del 76,9% y un VPP del 87% (cogiendo como valor de corte de la pepsina 16 ng/mL). Aumentando el valor patológico de la pepsina en saliva a 75 ng/mL, la sensibilidad de este es del 57,7% pero el VPP aumenta a un porcentaje del 93,8%.

Los resultados anteriores son de cualquier muestra de pepsina recogida siendo indiferente el motivo de la toma. En cambio, se obtuvieron otra serie de resultados cuando el motivo de la toma de la muestra era exclusivamente la percepción de síntomas. En concreto, los test durante periodos sintomáticos tienen mayor especificidad para ambos valores de corte (para 16 ng/mL: 66,7% y para 75 ng/mL: 100,0%) y, también, un VPP más alto (para 16 ng/mL: 92,3% y para 75 ng/mL: 100,0%).

Any salivary pepsin	Value	Symptomatic salivary pepsin	Value
≥ 16 ng/mL		≥ 16 ng/mL	
Sensitivity	76.9	Sensitivity	60.0
Specificity	25.0	Specificity	66.7
Positive predictive value	87.0	Positive predictive value	92.3
Negative predictive value	14.3	Negative predictive value	20.0
≥ 75 ng/mL		≥ 75 ng/mL	
Sensitivity	57.7	Sensitivity	50.0
Specificity	75.0	Specificity	100.0
Positive predictive value	93.8	Positive predictive value	100.0
Negative predictive value	21.4	Negative predictive value	23.1

Tabla 12 y 13: Resultados de varios datos estadísticos en cualquier muestra de pepsina y estos mismo datos en muestras tomadas ras sintomatología .

“The diagnostic usefulness of the salivary pepsin test in symptomatic laryngopharyngeal reflux” de Barona-Lleó L *et al* (52).

221 sujetos fueron sometidos a un estudio de precisión diagnóstica con el objetivo de determinar la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos (positivo y negativo) y la razón de verosimilitud positiva y negativa del Peptest. Se realizó una primera determinación de la pepsina en ayunas a todos los pacientes del estudio; y una segunda determinación pasada una hora de la comida más copiosa del día, solo en aquellos con un resultado negativo en la determinación realizada en ayunas.

Comparando los resultados obtenidos en las determinaciones de pepsina (positiva o negativa) y la puntuación obtenida en el RSI (≤ 13 o >13), se calcularon los valores estadísticos necesarios para los objetivos del estudio.

La sensibilidad baja en la primera determinación en ayunas (40,00%) y no sufre gran aumento con la doble determinación (48,05%). Sin embargo, la especificidad si posee valores altos tanto en ayunas (97,56%) como en la determinación doble de pepsina (95,00%), que hace que se obtenga una gran razón de verosimilitud positiva (16,40 y 9,61, respectivamente). Esto a su vez, provoca que la probabilidad de que un paciente tenga RFL tras un resultado positivo en el Peptest, ya sea en la determinación en ayunas o en cualquier de las dos determinaciones, sea muy elevada; ya que el estudio cuenta con unos valores predictivos positivos de 98,63% (ayunas) y 94,87% (doble determinación).

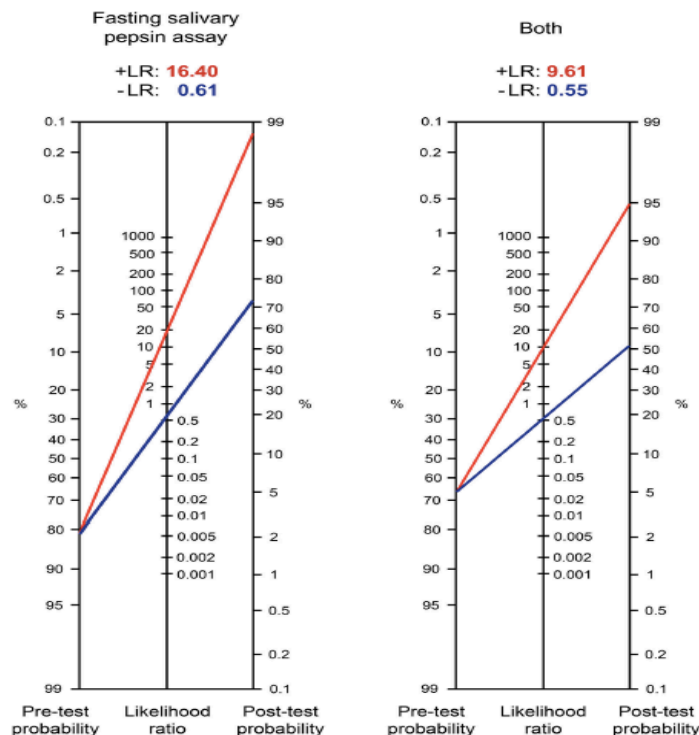


Figura 6: Nomogramas de Fagan que muestran cómo cambia la probabilidad de tener la enfermedad de acuerdo con los cocientes de probabilidad en sujetos sometidos a prueba con el ensayo de pepsina salival en ayunas, o tanto en ayunas como posprandial.

“Hypopharyngeal-esophageal impedance-pH monitoring profiles of laryngopharyngeal reflux patients” de Lechien JR *et al* (53).

Entre uno de los objetivos del estudio se encuentra conocer la relación que existe entre la concentración de pepsina en saliva (determinada a través de Peptest) y los episodios de reflujo hipo-faríngeo (monitorizados mediante HEMII-pH de 24 horas). Se estudió a través de una regresión lineal múltiple.

La colección de muestras de pepsina se produjo en tres ocasiones del día: por la mañana en ayunas, y entre 1 y 2 horas después de la comida y la cena. La media de las concentraciones de pepsina registradas fueron las siguientes: en ayunas 79,5, tras la comida 141,7 y tras la cena 124,1.

De los 126 pacientes que completaron el estudio, tan solo 21 (16,67%) fueron diagnosticados de RFL mediante HEMII-pH y obtuvieron un resultado negativo en el Peptest. Por lo tanto, 105 sujetos (83,33%) fueron positivos en la determinación de pepsina en saliva. La concentración de pepsina durante las 24 horas del día se encuentra relacionada con sintomatología compatible con el RFL, como por ejemplo el quemazón en la lengua (rs: 0.177; P = .025).

Pepsin saliva level, ng/mL, mean \pm SD, range	
Morning	79.5 \pm 91.4, 0-500
After lunch	141.7 \pm 133.0, 0-500
After dinner	124.1 \pm 119.9, 0-500

Tabla 14: Niveles de pepsina según el momento del registro de la muestra.

“Usefulness of Pep-Test for laryngo-pharyngeal reflux: a pilot study in primary care” de Bozzani A *et al* (54).

El presente estudio piloto (multicéntrico, abierto y no intervencionista) puso a prueba la fiabilidad del Peptest en el diagnóstico del RFL y evaluó la concentración de pepsina en saliva en estos pacientes. Mediante el cuestionario del RSI se diferenció a los pacientes en dos grupos: 86 sujetos sospechosos de padecer RFL (Score ≥ 13) y 59 asintomáticos que hacen el papel de grupo control (Score < 5).

Se tomaron dos muestras de saliva. En caso de presentar sintomatología continua, se recogía la muestra 1 tras la comida y la muestra 2 tras la cena. Si los síntomas eran episódicos, 15 minutos más tarde de sufrir el primer síntoma se recogía la muestra 1, y la muestra 2 también se recogería tras 15 minutos pero de un síntoma diferente.

El porcentaje en el que el test de pepsina fue positivo en al menos una de las muestras fue: 76% (65/86) en el grupo con RFL y 88% (52/59) en el grupo control. Además, el porcentaje que se obtuvo de resultados positivos en el Peptest en ambas muestras también fue diferente. En concreto, 25 de los 45 sujetos del grupo con RFL fueron positivos (56%), y 22 de 36 lo fueron en el grupo control (61%).

En cuanto a las concentraciones de pepsina en saliva obtenidas en cada uno de los grupos, se puede observar como valores más altos en la concentración de pepsina fueron dados por los pacientes del grupo control.

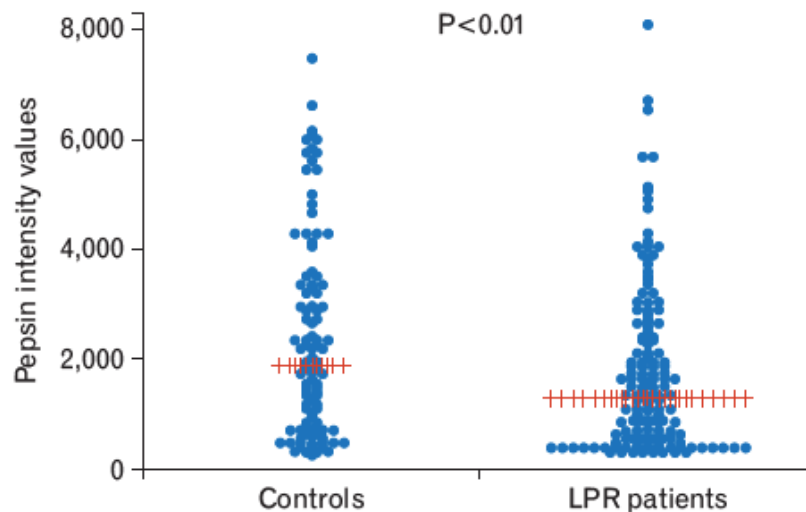


Figura 7: Concentración de pepsina salival, expresada como valor de intensidad de pepsina en los dos grupos. La línea roja indica la media.

“Detecting laryngopharyngeal reflux in patients with upper airways symptoms: symptoms, signs or salivary pepsin?” de Spyridoulas A *et al* (55).

El objetivo del estudio es evaluar los valores obtenidos de pepsina en saliva, en relación con dos formas de diagnóstico clínico del RFL (RSI >13 y RFS >7) y con los resultados obtenidos en el estudio con impedancia-pH. En este caso, el punto de corte seleccionado en los valores de pepsina para considerar un Peptest positivo fue de 25 ng/mL.

De los 78 sujetos incluidos en el ensayo, el 87% obtuvo un RSI >13 y el 51% un RFS >7. En cuanto a la pepsina, esta fue detectada como positiva en el 63% de los pacientes. En concreto, el Peptest fue positivo en el 63% de los sujetos con un RSI patológico, pero también lo fue positivo en el 60% de los pacientes que no padecían síntomas significativos. Sin embargo, si existió mayor diferencia en los porcentajes de positividad del Peptest entre estos dos grupos cuando se comparó con lo

mostrado en el RFS. Se encontró pepsina en las muestras del 78% de los pacientes con un RFS >7 y tan solo en un 47% de los asintomáticos.

Por lo tanto, no se puede asegurar una correlación entre el RSI y la concentración de pepsina en saliva. En cambio, si existe una relación significativa entre la pepsina y la puntuación del RFS, es decir, entre la pepsina y los signos de inflamación laríngea que pueden ser vistos mediante laringoscopia. Se calculó que la pepsina en saliva posee una sensibilidad del 78% y una especificidad del 53% para predecir un resultado >7 en el RFS.

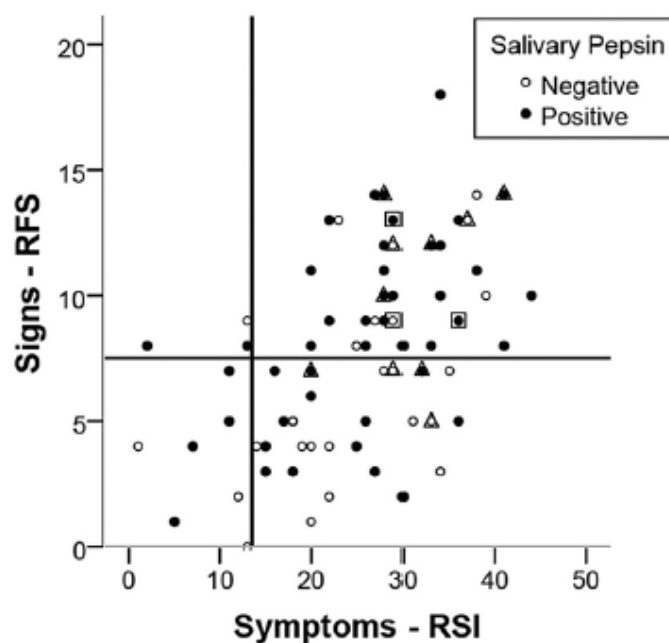


Figura 8: Gráfica de dispersión que demuestra la relación entre los síntomas y los signos de reflujo para sujetos con pepsina positiva y pepsina negativa.

“Immunoserologic pepsin detection in the saliva as a non-invasive rapid diagnostic test for laryngopharyngeal reflux” de Ocak E *et al* (56).

Veinte pacientes fueron sometidos a estudio con el fin de evaluar la precisión de la detección de pepsina inmuno-serológica en saliva para el diagnóstico del RFL. Los sujetos fueron seleccionados si sufrían al menos un síntoma sugestivo de RFL, obtenían una puntuación > 15 en el cuestionario RSI y > 3 en el RFS.

Tan solo una muestra de pepsina fue recogida mediante Peptest. Este se recogió cuando el paciente consideró que estaba padeciendo el síntoma más prominente relacionado con el reflujo.

De los 20 pacientes, tan solo 6 presentaron una determinación positiva de pepsina en saliva. Aun así, de acuerdo con los resultados obtenidos en el ensayo, la sensibilidad del Peptest calculada es del 33% y la especificidad del 100%. Mediante una serie de métodos estadístico se comprobó que el valor predictivo positivo era también del 100%, y que el valor predictivo negativo alcanzó un porcentaje del 14,2%.

“Abilities of oropharyngeal pH tests and salivary pepsin analysis to discriminate between asymptomatic volunteers and subjects with symptoms of laryngeal irritation” de Yadlapati R *et al* (57).

La finalidad de este estudio es examinar la capacidad del test de pH orofaríngeo (Restech Dx-pH) y del test de pepsina en saliva (Peptest), para discernir entre voluntarios asintomáticos (grupo control) y pacientes con síntomas tanto laríngeos como propios del reflujo. Para ello 53 sujetos fueron los que finalmente se seleccionaron y se diferenciaron en 3 grupos: el grupo control formado por 18 sujetos ($RSI \leq 13$ y Questionario ERGE < 8), el grupo denominado laríngeo con 18 pacientes ($RSI > 13$ y Questionario ERGE < 8) y el grupo que fue llamado laríngeo+reflujo que estaba formado por 17 pacientes ($RSI > 13$ y Questionario ERGE ≥ 8).

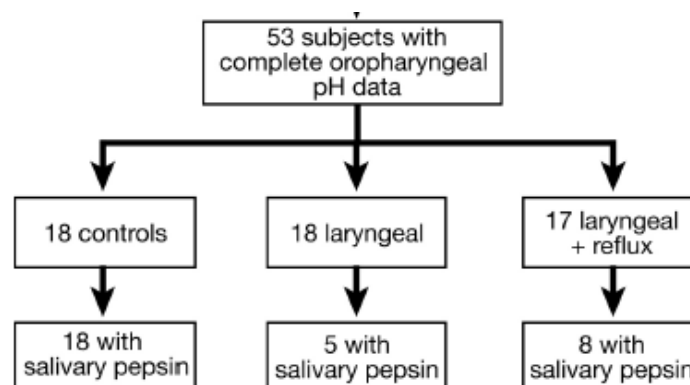


Figura 9: Desglose de los pacientes.

En cuanto a los resultados de las determinaciones de pepsina en saliva entre los tres grupos, no se produjo una diferencia lo suficientemente significativa. Sin embargo, si que se observó cierta disparidad entre los porcentajes de positividad de dicha prueba (53% grupo control, 40% grupo laríngeo y 75% grupo laríngeo+reflujo). Con respecto a las concentraciones medias de pepsina que fueron recogidas, si que se presenció que el grupo laríngeo+reflujo tenía un valor medio significativamente más alto (117,9 ng/mL) en comparación con los otros dos grupos, tanto el control (32,4 ng/mL) como el laríngeo (7,5 ng/mL).

	Control (18)	Laryngeal (6)	Laryngeal + Reflux (9)	P-value
Abnormal Peptest™ Result	9 (53%)	2 (40%)	6 (75%)	0.5
Mean Salivary Pepsin (ng/mL)	32.4 ± 41.9	7.5 ± 11.2	117.9 ± 147.4	0.1

Tabla 15: Resultados del Peptest según los diferentes grupos.

Finalmente, tras el análisis estadístico comparativo entre las diferentes pruebas, se afirmó que no existe correlación significativa entre el la concentración de pepsina y el test Dx-pH. Además, tampoco se pudo hallar una relación entre os resultados obtenidos en el Peptest y los hallazgos endoscópicos.

“Objective detection of esophagopharyngeal reflux in patients with hoarseness and endoscopic signs of laryngeal inflammation” de Hayat J *et al* (58).

El estudio cuenta con 31 participantes de los cuales veintiuno han sido diagnosticados de RFL, dado que presentaban los siguientes criterios: ronquera, puntaje >13 en el cuestionario RSI y una laringoscopia con valor >7 según el RFS. Los otros 10 sujetos, todos ellos asintomáticos, formarán el grupo control. A través de estos dos grupos se trata de cuantificar la exposición faríngea al contenido gástrico en pacientes diagnosticados con ronquera relacionada con el reflujo utilizando nuevas técnicas, como el Peptest. Se determinarán 5 muestras de pepsina en saliva mediante este (en ayunas, a mediodía, a las 17 horas, una hora tras la cena y justo antes de irse a la cama).

Del grupo de los pacientes (RFL) se obtuvieron 28 muestras positivas de 13 de los 21 sujetos (26,7 % de las muestras positivas y 61,9% de los pacientes positivos); mientras que del grupo control tan solo 6 muestras fueron positivas pertenecientes a 4 de los 10 sujetos asintomáticos (12,0% de las muestras positivas y 40,0% de los pacientes positivos).

En cuanto a la relación del diagnóstico del RFL mediante HEMII-pH y la determinación de pepsina; 8 de los 10 (80%) pacientes con diagnóstico positivo con HEMII-pH, también lo fueron en el Peptest. Siendo positiva la pepsina en más de dos muestras en 6 de estos pacientes (60%). Tan solo 4 de los 11 (36%) componentes restantes pertenecientes al grupo control fueron positivos en alguna de las determinaciones de pepsina en saliva.

Por otro lado, la pepsina en saliva fue positiva en más de dos determinaciones en 2 de los 9 pacientes (22%) que tuvieron una prueba Dx-pH positiva. En contraposición, ninguno de los pacientes que tuvo dicha prueba negativa, dio positivo en el Peptest.

En último lugar, se clasificó a los pacientes con RFL en 4 grupos: grupo A (pacientes con las 3 pruebas positivas), grupo B (pacientes con 2 pruebas positivas siendo la HEMII-pH una de ellas), grupo C (pacientes con Dx-pH positiva o pepsina positiva o ambas, pero con HEMII-pH negativa) y grupo D (todas las pruebas negativas). Los resultados obtenidos se encuentran en la siguiente tabla:

	Distal AET (%)	Distal Reflux Episodes	Pharyngeal Reflux Episodes	Pepsin No.	Pepsin Concentration (ng/mL)	Restech "RYAN" Score
Group A (n = 3)	4.1 (1-7.3)	32 (21-56)	4 (2-7)	2 (1-3)	101.5 (61.8-171.3)	36 (21.8-61.3)
Group B (n = 7)	1.3 (0.5-3.1)	31 (20-38)	5 (2-5)	2 (0-3)	75 (25-158)	2.1 (2.1-20.9)
Group C (n = 7)	0.2 (0-1.2)	12 (4-26)	0 (0-0)	1.5 (0-3)	72 (37-225)	13.6 (2.1-356.6)
Group D (n = 4)	0.8 (0.25-1.2)	10 (3-22)	0 (0-0)	0 (0-0)	N/A	2.1 (2.1-2.1)

Values are presented as median with interquartile range.
AET indicates acid exposure time.

Tabla 16: Resumen de los resultados según los grupos.

6. Discusión

Durante los últimos años, abundante cantidad de estudios han sido realizados para comprender mejor todo lo que engloba al RFL y el papel que juega una enzima digestiva como la pepsina en esta patología. Asimismo, la mayoría de las investigaciones se han centrado en el tema con mayor controversia de la enfermedad, su método diagnóstico, que aun a fecha de hoy sigue sin contar con una prueba de oro.

Cantidad de pruebas diagnósticas han sido relegadas a un segundo plano con el paso del tiempo; ya fuese por el elevado coste económico que suponían, la complejidad interpretativa que requería la prueba, la escasa sensibilidad y especificidad observada en los ensayos o el rechazo por parte de los pacientes debido a que la mayor parte de estas pruebas eran invasivas. Con el objetivo por parte de los expertos de encontrar un método diagnóstico fiable, el Peptest ha ido poco a poco cogiendo fuerza en este aspecto; a falta de muchas investigaciones que puedan demostrar que es significativamente relevante. Y es que las características que posee esta prueba (barata, fácilmente interpretable, sencilla y no invasiva) son las que han sido perseguidas por estos durante años.

Con el objetivo de evaluar la validez diagnóstica del Peptest, se van a ir valorando sensibilidades y especificidades, en entre otras variables, del mismo modo que se analizarán y compararán con resultados obtenidos mediante otras pruebas diagnósticas.

En primer lugar, se valorará la relación del Peptest con los métodos de diagnóstico clínico (RSI y RFS).

Debido a que unas de las primeras intervenciones por parte de los profesionales cuando un paciente es sospechoso de padecer esta patología es realizar la valoración inicial estándar a través del RSI y del RFS, es interesante conocer la eficacia de Peptest en relación con dichos parámetros.

En el artículo **“Laryngopharyngeal reflux: symptoms, signs, and presence of pepsin in saliva – A reliable diagnostic triad”** de Divakaran S *et al* (49), a través del análisis del chi-cuadrado, se muestra la correlación significativa que existe entre

los Peptest y los pacientes con un RSI > 13 (76,3% de pruebas positivas), así como con los que tenían un RFS > 7 (94,4% de pruebas positivas). Sin embargo, en el artículo **“Detecting laryngopharyngeal reflux in patients with upper airways symptoms: symptoms, signs or salivary pepsin?”** de Spyridoulis A *et al* (55) no se observa una relación significativamente importante con el RSI ya que el 63% de los Peptest fueron positivos para pacientes con un RSI > 13, pero para aquellos con un RSI < 13 el porcentaje fue muy similar (60%). Valores más relevantes fueron vistos en relación con los signos de inflamación laríngeos, dado que el 78% de los pacientes con RFS > 7 obtuvo un resultado positivo en el Peptest (47% de positivos en RFS < 7).

Aunque se puede presenciar cierta tendencia hacia un mayor número pruebas positivas en aquellos pacientes con RSI o RFS patológicos, los autores no acaban de estar convencidos con los resultados obtenidos y creen en la necesidad de más estudios con estas características. En cambio, tanto Divakaran S *et al* (49) en su artículo como Yadlapati R *et al* (57) en **“Abilities of oropharyngeal pH tests and salivary pepsin analysis to discriminate between asymptomatic volunteers and subjects with symptoms of laryngeal irritation”**, sugieren una fuerte correlación entre la pepsina y la combinación del RSI con el RFS, es decir, en pacientes con ambos parámetros patológicos si se observan valores significativamente más altos. Si a esto le sumamos una respuesta al tratamiento empírico con IBPs adecuada, existe un altísimo porcentaje de acierto si diagnosticamos al paciente de RFL (49).

En conclusión, estudios como el de Spyridoulis A *et al* (55) no pueden demostrar una correlación significativa entre el Peptest y uno de los parámetros de forma aislada; en contraposición de lo expuesto por Sereg-Bahar *et al* (59) en uno de sus estudios donde sí se manifiesta una relación significativamente importante con la combinación de ambos parámetros y el Peptest, ya que se han encontrado un aumento en los valores de pepsina en saliva en pacientes con síntomas, tanto laríngeos como propios del reflujo. Por lo tanto, podría ser interesante, en cuanto a la reducción de sesgos diagnósticos, la combinación del RSI y el RFS, junto al Peptest; dado que los síntomas incluidos en el RSI (dificultad para respirar, exceso

de moco o ronquera) son poco específicos y los signos no presentan la frecuencia y severidad necesaria para ser evaluados mediante el RFS (60).

En segundo lugar, se analizará la relación del Peptest con la prueba HEMII-pH.

Según diferentes expertos, la controversia en relación con el RFL radica en no poseer una prueba de referencia para su diagnóstico, motivo por el que la mayor parte de investigaciones siguen la línea del presente estudio: revisar la eficacia de las pruebas diagnóstica para el diagnóstico de la enfermedad. Con respecto a la ERGE, la HEMII-pH de 24 horas se considera prueba Gold Standard para su diagnóstico, por lo que también es considerada de gran importancia dentro del RFL debido a sus similitudes fisiopatológicas y a la falta de una prueba de oro por parte de esta última. Por lo tanto, creo que poder conocer la relación que existe entre el Peptest y la HEMII-pH puede aportar una ventana de posibilidades, dado que la mayor parte de los ensayos toman como prueba de referencia la HEMII-pH y a partir de ella valoran la prueba de pepsina en saliva.

En primer lugar, en el artículo **“Validation of Peptest in patients with gastro-esophageal reflux and laryngopharyngeal reflux undergoing impedance testing”** de Bor S *et al* (50) enuncia que si alguien presenta un episodio de reflujo objetivo (HEMII-pH), el Peptest posee una probabilidad del 68% de ser positivo. Desde mi punto de vista, este porcentaje de episodios que no son detectados se debe a la presencia de sintomatología típica de la ERGE que fueron identificados en el trayecto distal del esófago y que no pueden ser detectados en la muestra tomada en saliva.

En el artículo **“Objective detection of esophagopharyngeal reflux in patients with hoarseness and endoscopic signs of laryngeal inflammation”** de Hayat J *et al* (58), el 80% de los pacientes en los que se detectó reflujo faríngeo a través de la prueba HEMII-pH, también obtuvo un resultado positivo en el Peptest. Además, tan solo 4 de los 11 pacientes (36%) en los que no se detectó reflujo faríngeo, dieron positivo en la prueba de pepsina salival. No obstante, los resultados observados en el artículo **“Pepsin and Oropharyngeal pH monitoring to diagnose patients with laryngopharyngeal reflux”** de Weitzendorfer M *et al* (5) generan cierta controversia en relación con los del artículo anterior, dado que en este el porcentaje

de Peptest positivos en pacientes con hallazgos patológicos en HEMII-pH es incluso superior (85,4%); pero en aquellos con una prueba HEMII-pH dentro de la normalidad, la positividad en los Peptest difiere de manera abultada alcanzando un porcentaje del 72,4%. En mi opinión, esta discrepancia podría ser explicada mediante la presencia de una especie de reflujo silente que no puede ser detectado con la prueba HEMII-pH y si con el Peptest.

Por último, la falta de una significativa correlación entre los episodios de reflujo reflejados en la HEMII-pH y los resultados obtenidos en la prueba de pepsina se reflejan en el artículo **“Hypopharyngeal-esophageal impedance-pH monitoring profiles of laryngopharyngeal reflux patients”** de Lechien JR *et al* (53). El desplazamiento de pepsina hacia el interior de las células epiteliales o el hecho de que los valores de pepsina medidos no reflejen la cantidad real que se encuentra depositada en la mucosa aerodigestiva, son teorías que podrían explicar la poca asociación mostrada entre las pruebas. Del mismo modo, podría ser que la pepsina no fuera la única enzima digestiva implicada en la inflamación de la laringo-faringe, por lo que considero una idea interesante la realización de más investigaciones acerca de otras enzimas gastroduodenales como la elastasa, lipasa, amilasa o tripsina.

En tercer lugar, se reflexionará acerca del punto de corte de la pepsina en el Peptest.

En la inmensa mayoría de los artículos incluidos en el estudio, una concentración de pepsina en saliva por encima de 16 ng/mL ha sido el valor de corte a partir del cual se ha considerado positivo el resultado del Peptest, a excepción del estudio realizado por Spyridoulas A *et al* (55) donde se decidió aumentar el punto de corte hasta 25 ng/mL. Creo que es importante hacer hincapié en la concentración de pepsina porque hoy en día se sigue sin tener un valor de corte estandarizado para la medición de pepsina con Peptest. Este aspecto podría suponer un pequeño impulso para esta prueba que no logra obtener resultados tan significativos como se requiere para poder servir como prueba de oro.

Por un lado, en el estudio llevado a cabo por Weitzendorfer M *et al* (5), utilizando un valor de corte de la pepsina de 16ng/mL obtuvo una especificidad elevada

(85,4%) pero una sensibilidad muy baja (27,6%). No obstante, utilizando la curva ROC, registró mejores resultados con un valor de corte de la pepsina de 216 ng/mL para diferenciar paciente con y sin RFL; observando un ligero ascenso en la especificidad (86,3%) y un aumento notable en la sensibilidad (41,5%). Estos resultados pueden compararse con un ensayo realizado por Hayat JO *et al* (61), ya que estableciendo un punto de corte muy similar (210 ng/mL) alcanzó una sensibilidad muy parecida con una especificidad del 98,2%.

Por otro lado, el artículo **“Diagnostic utility of salivary pepsin as compared with 24-hour dual pH/impedance probe in laryngopharyngeal reflux”** de Zhang M *et al* (51) comparó especificidad, sensibilidad y VPP entre el valor de corte más extendido (16 ng/mL) y 75 ng/mL. En cuanto a los resultados obtenidos en cualquier toma de muestra, se observó una menor sensibilidad, pero un VPP cercano al 95% tomando como punto de corte una concentración del 75 ng/mL. Con este mismo valor de corte y la muestra recogida justo después de padecer un síntoma, se obtuvo, tanto una especificidad como un VPP del 100%.

A pesar de esto, se siguen encontrando estudios como **“Usefulness of Pep-Test for laryngo-pharyngeal reflux: a pilot study in primary care”** de Bozzani A *et al* (54) que generan gran controversia, dado que se percibió una concentración mayor de pepsina en el grupo control que en el grupo sugestivo de padecer RFL. Este hecho podría ser explicado a partir de los criterios de selección de los pacientes para formar los diferentes grupos, donde tan solo fue requerido un RSI < 5 para el grupo control y un RSI ≥ 13 para el grupo susceptible de RFL, lo que podría haber provocado un sesgo en la selección de los pacientes.

En resumen, creo conveniente continuar las investigaciones en este ámbito para lograr un punto de corte óptimo en el nivel de pepsina en saliva; aunque, encontrado este valor creo que seguirá siendo necesaria la combinación del Peptest con otros métodos diagnósticos clínicos, como el RSI o el RFS, para poder aumentar la sensibilidad y especificidad del algoritmo diagnóstico que se realiza en la práctica clínica diaria.

Tras la revisión de todos los artículos aquí recogidos, se observan las diferentes estrategias de recogida de muestras que han sido empleadas. Existen estudios en

los que les interesa tomar las muestras tan solo con la presencia de síntomas, otros en los que se prefiere conocer la diferencia entre los resultados obtenidos en ayunas y los que se obtienen tras la comida o la cena; y otros que están interesados en saber los valores de pepsina a la hora de acostarse. En este instante surge la duda de cuándo es el momento óptimo para la recogida de las muestras. Na SY *et al* (62) muestra en su estudio que los valores más elevados en las determinaciones de pepsina fueron los recogidos en ayunas. Del mismo modo, Lechien JR *et al* (53) en uno de sus estudios apoya este argumento debido al valor predictivo del nivel de pepsina en saliva obtenido en relación con la severidad de los signos inflamatorios laríngeos y de ciertos síntomas. Además, el propio Lechien JR *et al* (63) en otro ensayo más reciente añade que la concentración de pepsina en ayunas podría ser más representativa de cantidad de pepsina que se ha depositado en la vía aerodigestiva superior durante las últimas 12-24 horas.

Sin embargo, todos estos autores refieren en sus estudios la necesidad de futuras investigaciones para confirmar el momento óptimo para tomar la muestra. A ellos se suma Weitzendorfer M *et al* (5) que no puede corroborar dicha hipótesis en su estudio, dado que los valores más elevados de pepsina son tras la comida y la cena; situación que podría explicarse por el hecho de que la pirosis suele darse entre una hora y dos tras las comidas.

Por otro lado, Barona-Lleó L *et al* (42) expone en su estudio **“Salivary Pepsin Test: Useful and simple tool for the laryngopharyngeal reflux diagnosis”** que el mejor momento del día para tomar la muestra es por la mañana (en ayunas), debido a que, de los pacientes que obtuvieron un resultado positivo en ayunas y deciden realizarse una segunda determinación de pepsina tras la comida, el 100% de ellos vuelve a obtener un resultado positivo (demostrando que no es imprescindible una segunda determinación). Este mismo método de recogida de muestras se realizó en otro estudio: **“The diagnostic usefulness of the salivary pepsin test in symptomatic laryngopharyngeal reflux”** de Barona-Lleó L *et al* (52) en el se observó una sensibilidad ligeramente baja y una especificidad cercana al 100% (tanto en la determinación en ayunas como en la doble determinación). Este ensayo consiguió un VPP muy elevado (98,63%), tal y como se observa en el estudio **“Immunoserologic pepsin detection in the saliva as a non-invasive rapid**

diagnostic test for laryngopharyngeal reflux” de Ocak E *et al* (56) donde se obtuvo un VPP y una especificidad del 100%. Por lo tanto, aunque existen ciertos estudios que apoyan la recogida de la muestra por la mañana como momento óptimo del día, no existe evidencia significativa que lo demuestre. En mi opinión, considero mejor estrategia la seguida por Ocak E *et al* (56) dado que la muestra es tomada tras la percepción por parte del paciente de un síntoma cardinal del RFL.

Otras revisiones y metaanálisis que estudian la utilidad del Peptest en el diagnóstico del RFL van en la línea de lo comentado anteriormente. Wang J *et al* (64) concluye en su metaanálisis que la pepsina salivar tiene una capacidad moderada de diagnosticar el RFL. Añade que los diferentes valores de corte utilizados en los estudios pueden afectar a la validez diagnóstica de esta prueba, y, por tanto, no se considera que exista evidencia suficiente para recomendar su uso.

Calvo-Henríquez *et al* (65), por su parte, realiza una revisión sistemática para evaluar la validez de este marcador, y concluye que, según la bibliografía, la pepsina podría ser un marcador de confianza en pacientes con RFL, aunque aún hay dudas acerca del momento y la localización donde se debe realizar la medición, además del valor de corte a utilizar para interpretar la prueba como positiva.

Entre otras técnicas diagnósticas en estudio para el diagnóstico del RFL se incluye la monitorización del pH orofaríngeo. Los estudios que evaluaron simultáneamente sondas esofágicas y faríngeas demostraron que la sonda faríngea es capaz de capturar los episodios de reflujo con precisión (27). Sin embargo, Becker *et al* (36) observó que la pH-metría orofaríngea únicamente era capaz de detectar el 11% de los episodios de reflujo registrados por HEMII-pH. Por lo tanto, pese a que no se ha demostrado una evidencia superlativa en los resultados de la prueba de la pepsina, actualmente se podría considerar la técnica no invasiva con mejores resultados para el diagnóstico del RFL.

7. Conclusiones

- El Peptest es una prueba no invasiva, económica y fácilmente interpretable que podría ser útil, siendo consciente de la necesidad de futuras investigaciones, como herramienta diagnóstica complementaria para el diagnóstico del RFL, minimizando así la cantidad de pruebas invasivas y de tratamientos empíricos.
- No existe evidencia significativa de que el Peptest presente una validez superior a otros métodos analizados en el estudio como prueba de referencia para el RFL. Sin embargo, la mayor parte de los estudios sugieren que la combinación del Peptest con métodos diagnóstico clínicos (RSI y RFS), junto a una respuesta adecuada al tratamiento empírico con IBPs, podría ser una alternativa interesante en el algoritmo diagnóstico de la enfermedad.
- Existe una fuerte evidencia de la implicación de la pepsina como agente patógeno del RFL. Asimismo, es conveniente continuar investigando sobre las características diagnósticas de la pepsina, dado que no se posee certeza significativa sobre la concentración óptima para el valor de corte, ni sobre el momento más adecuado para la toma de la muestra.

8. Referencias

1. Hammer HF. Reflux-associated laryngitis and laryngopharyngeal reflux: A gastroenterologist's point of view. *Digestive Diseases*. 2009;27(1):14–7.
2. Koufman JA, Aviv JE, Casiano RR, Shaw GY. Laryngopharyngeal reflux: Position statement of the Committee on Speech, Voice, and Swallowing Disorders of the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2002;127(1):32–5.
3. Lechien JR, Mouawad F, Barillari MR, Nacci A, Khoddami SM, Enver N, et al. Treatment of laryngopharyngeal reflux disease: A systematic review. *World Journal of Clinical Cases*. 2019;7(19):2995–3011.
4. Samuels TL, Johnston N. Pepsin as a causal agent of inflammation during nonacidic reflux. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2009;141(5):559–63.
5. Weitzendorfer M, Antoniou SA, Schredl P, Witzel K, Weitzendorfer IC, Majerus A, et al. Pepsin and oropharyngeal pH monitoring to diagnose patients with laryngopharyngeal reflux. *Laryngoscope*. 2020;130(7):1780–6.
6. Wang CP, Wang CC, Lien HC, Lin WJ, Wu SH, Liang KL, et al. Saliva Pepsin Detection and Proton Pump Inhibitor Response in Suspected Laryngopharyngeal Reflux. *Laryngoscope*. 2019;129(3):709–14.
7. Saritas Yuksel E, Hong SKS, Strugala V, Slaughter JC, Goutte M, Garrett CG, et al. Rapid salivary pepsin test: Blinded assessment of test performance in gastroesophageal reflux disease. *Laryngoscope*. 2012;122(6):1312–6.
8. Lechien JR, Saussez S, Schindler A, Karkos PD, Hamdan AL, Harmegnies B, et al. Clinical outcomes of laryngopharyngeal reflux treatment: A systematic review and meta-analysis. *Laryngoscope*. 2019;129(5):1174–87.
9. Koufman J, Sataloff RT, Toohill R. Laryngopharyngeal reflux: Consensus conference report. *Journal of Voice*. 1996;10(3 2):215–6.

10. Postma GN. Ambulatory pH monitoring methodology. *Annals of Otolaryngology, Rhinology and Laryngology*. 2000;109(10 II SUPPL.):10–4.
11. Koufman, J A. The otolaryngologic manifestation of reflux disease. A clinical investigation of 225 patients hour pH monitoring and an experimental investigation pepsin in the development of laryngeal njury. *Laryngoscope* №4. 1991;101:Pt 2.-Suppl 53.-P.1-78.
12. Koufman JA, Blalock PD. Vocal fatigue and dysphonia in the professional user: Bogart-Bacall syndrome. *The Laryngoscope*. 1988;98(5):493–8.
13. Dent J, El-Serag HB, Wallander MA, Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: A systematic review. *Gut*. 2005;54(5):710–7.
14. Kahrilas PJ. Anatomy and physiology of the gastroesophageal junction. *Gastroenterology Clinics of North America*. 1997;26(3):467–86.
15. Zachariah RA, Goo T, Lee RH. Mechanism and Pathophysiology of Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*. 2020;30(2):209–26.
16. Curcic J, Roy S, Schwizer A, Kaufman E, Forras-Kaufman Z, Menne D, et al. Abnormal structure and function of the esophagogastric junction and proximal stomach in gastroesophageal reflux disease. *American Journal of Gastroenterology*. 2014;109(5):658–67.
17. Komatsu Y, Kelly LA, Zaidi AH, Rotoloni CL, Kosovec JE, Lloyd EJ, et al. Hypopharyngeal pepsin and Sep70 as diagnostic markers of laryngopharyngeal reflux: preliminary study. *Surgical Endoscopy*. 2015;29(5):1080–7.
18. Johnston N, Knight J, Dettmar PW, Lively MO, Koufman J. Pepsin and carbonic anhydrase isoenzyme III as diagnostic markers for laryngopharyngeal reflux disease. *Laryngoscope*. 2004;114(12):2129–34.
19. Johnston N, Dettmar PW, Lively MO, Postma GN, Belafsky PC, Birchall M, et al. Effect of pepsin on laryngeal stress protein (Sep70, Sep53, and Hsp70)

- response: Role in laryngopharyngeal reflux disease. *Annals of Otology, Rhinology and Laryngology*. 2006;115(1):47–58.
20. Fandiño LHJ, Tarazona NM, Díaz JAO. Laringitis por reflujo: La perspectiva del otorrinolaringólogo. *Revista Colombiana de Gastroenterología*. 2011;26(3):198–206.
 21. Aviv JE, Liu H, Parides M, Kaplan ST, Close LG. Laryngopharyngeal sensory deficits in patients with laryngopharyngeal reflux and dysphagia. *Annals of Otology, Rhinology and Laryngology*. 2000;109(11):1000–6.
 22. Vakil N, van Zanten S v., Kahrilas P, Dent J, Jones R, Bianchi LK, et al. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: A global evidence-based consensus. *American Journal of Gastroenterology*. 2006;101(8):1900–20.
 23. Wiener GJ, Koufman JA, Wu WC, Cooper JB, Richter JE, Castell DO. Chronic hoarseness secondary to gastroesophageal reflux disease: Documentation with 24-h ambulatory pH monitoring. *American Journal of Gastroenterology*. 1989;84(12):1503–8.
 24. Belafsky PC, Postma GN, Daniel E, Koufman JA. Transnasal Esophagoscopy. *Otolaryngology- Head and Neck Surgery*. 2001;125(6):588–9.
 25. Koufman JA, Amin MR, Panetti M. Prevalence of reflux in 113 consecutive patients with laryngeal and voice disorders. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2000;123(4):385–8.
 26. Boyd Gillespie M. Ballenger's otorhinolaryngology head and neck surgery, 16th edition by James B. Snow, Jr, and John Jacob Ballenger, BC Decker, Inc., Hamilton, Ontario, Canada, 2003, 1616 pp. *Head & Neck*. 2004;26(11):999–1000.
 27. Lechien JR, Akst LM, Hamdan AL, Schindler A, Karkos PD, Barillari MR, et al. Evaluation and Management of Laryngopharyngeal Reflux Disease: State

- of the Art Review. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery* (United States). 2019;160(5):762–82.
28. Vaezi MF, Hicks DM, Abelson TI, Richter JE. Laryngeal signs and symptoms and gastroesophageal reflux disease (GERD): A critical assessment of cause and effect association. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2003;1(5):333–44.
 29. Lechien JR, Bobin F, Muls V, Thill MP, Horoi M, Ostermann K, et al. Validity and reliability of the reflux symptom score. *Laryngoscope*. 2020;130(3):E98–107.
 30. Vance D, Alnouri G, Shah P, O’Connell Ferster AP, Lyons K, Ross J, et al. The Validity and Reliability of the Reflux Finding Score. *Journal of Voice*. 2020;(August):1313–7.
 31. Hicks DM, Ours TM, Abelson TI, Vaezi MF, Richter JE. The prevalence of hypopharynx findings associated with gastroesophageal reflux in normal volunteers. *Journal of Voice*. 2002;16(4):564–79.
 32. Ahmed TF, Khandwala F, Abelson TI, Hicks DM, Richter JE, Milstein C, et al. Chronic laryngitis associated with gastroesophageal reflux: Prospective assessment of differences in practice patterns between gastroenterologists and ENT physicians. *American Journal of Gastroenterology*. 2006;101(3):470–8.
 33. Patel D, Vaezi MF. Normal esophageal physiology and laryngopharyngeal reflux. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2013;46(6):1023–41.
 34. Merati AL, Ulualp SO, Lim HJ, Toohill RJ. Meta-analysis of upper probe measurements in normal subjects and patients with laryngopharyngeal reflux. *Annals of Otology, Rhinology and Laryngology*. 2005;114(3):177–82.
 35. Borges LF, Chan WW, Carroll TL. Dual pH Probes Without Proximal Esophageal and Pharyngeal Impedance May Be Deficient in Diagnosing LPR. *Journal of Voice*. 2019;33(5):697–703.

36. Becker V, Graf S, Schlag C, Schuster T, Feussner H, Schmid RM, et al. First Agreement Analysis and Day-to-Day Comparison of Pharyngeal pH Monitoring with pH/Impedance Monitoring in Patients with Suspected Laryngopharyngeal Reflux. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2012;16(6):1096–101.
37. Chiou E, Rosen R, Jiang H, Nurko S. Diagnosis of supra-esophageal gastric reflux: Correlation of oropharyngeal pH with esophageal impedance monitoring for gastro-esophageal reflux. *Neurogastroenterology and Motility*. 2011;23(8).
38. Fuchs HF, Müller DT, Berth F, Maus MK, Fuchs C, Dübbers M, et al. Simultaneous laryngopharyngeal pH monitoring (Restech) and conventional esophageal pH monitoring-correlation using a large patient cohort of more than 100 patients with suspected gastroesophageal reflux disease. *Diseases of the Esophagus*. 2018;31(10):1–8.
39. Ayazi S, Lipham JC, Hagen JA, Tang AL, Zehetner J, Leers JM, et al. A new technique for measurement of pharyngeal pH: Normal values and discriminating pH threshold. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2009;13(8):1422–9.
40. Bardhan KD, Strugala V, Dettmar PW. Reflux Revisited: Advancing the Role of Pepsin. *International Journal of Otolaryngology*. 2012;2012:1–13.
41. Morice AH, Dettmar PW. Reflux aspiration and lung disease. *Reflux Aspiration and Lung Disease*. 2018;1–370.
42. Barona-Lleó L, Duval C, Barona-de Guzmán R. Salivary Pepsin Test: Useful and simple tool for the laryngopharyngeal reflux diagnosis. *Acta Otorrinolaringologica Espanola*. 2018;69(2):110–3.
43. Schwartz SR, Cohen SM, Dailey SH, Rosenfeld RM, Deutsch ES, Gillespie MB, et al. Clinical practice guideline: Hoarseness (Dysphonia). *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2009;141(3 SUPPL. 2):S1–31.

44. Steward DL, Wilson KM, Kelly DH, Patil MS, Schwartzbauer HR, Long JD, et al. Proton pump inhibitor therapy for chronic laryngo-pharyngitis: A randomized placebo-control trial. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2004;131(4):342–50.
45. Wise SK, Wise JC, DelGaudio JM. Gastroesophageal reflux and laryngopharyngeal reflux in patients with sleep-disordered breathing. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 2006;135(2):253–7.
46. Alam KH, Vlastarakos P v. Diagnosis and Management of Laryngo-Pharyngeal Reflux. *Indian Journal of Otolaryngology and Head and Neck Surgery*. 2014;66(3):227–31.
47. Merati AL. Reflux and Cough. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2010;43(1):97–110.
48. Poelmans J, Tack J. Extraoesophageal manifestations of gastro-oesophageal reflux. *Gut*. 2005;54(10):1492–9.
49. Divakaran S, Rajendran S, Thomas RM, Jacob J, Kurien M. Laryngopharyngeal reflux: Symptoms, signs, and presence of pepsin in saliva - A reliable diagnostic triad. *International Archives of Otorhinolaryngology*. 2021;25(2):E273–8.
50. Bor S, Capanoglu D, Vardar R, Woodcock AD, Fisher J, Dettmar PW. Validation of peptest™ in patients with gastro-esophageal reflux disease and laryngopharyngeal reflux undergoing impedance testing. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*. 2019;28(4):383–7.
51. Zhang M, Chia C, Stanley C, Phyland DJ, Paddle PM. Diagnostic Utility of Salivary Pepsin as Compared With 24-Hour Dual pH/Impedance Probe in Laryngopharyngeal Reflux. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery (United States)*. 2021;164(2):375–80.
52. Barona-Lleo L, Barona-De Guzman R, Krstulovic C. The Diagnostic Usefulness of the Salivary Pepsin Test in Symptomatic Laryngopharyngeal Reflux. *Journal of Voice*. 2019;33(6):923–8.

53. Lechien JR, Bobin F, Dapri G, Eisendrath P, Salem C, Mouawad F, et al. Hypopharyngeal-Esophageal Impedance-pH Monitoring Profiles of Laryngopharyngeal Reflux Patients. *Laryngoscope*. 2021;131(2):268–76.
54. Bozzani A, Grattagliano I, Pellegatta G, Furnari M, Galeone C, Savarino V, et al. Usefulness of pep-test for laryngo-pharyngeal reflux: A pilot study in primary care. *Korean Journal of Family Medicine*. 2020;41(4):250–5.
55. Spyridoulas A, Lillie S, Vyas A, Fowler SJ. Detecting laryngopharyngeal reflux in patients with upper airways symptoms: Symptoms, signs or salivary pepsin? *Respiratory Medicine*. 2015;109(8):963–9.
56. Ocak E, Kubat G, Yorulmaz İ. Immunoserologic pepsin detection in the saliva as a non-invasive rapid diagnostic test for laryngopharyngeal reflux. *Balkan Medical Journal*. 2015;32(1):46–50.
57. Yadlapati R, Adkins C, Jaiyeola D, Lidder AK, Andrew J, Tan BK, et al. Subjects with Symptoms of Laryngeal Irritation. 2017;14(4):535–42.
58. Hayat JO, Yazaki E, Moore AT, Hicklin L, Dettmar P, Kang JY, et al. Objective detection of esophagopharyngeal reflux in patients with hoarseness and endoscopic signs of laryngeal inflammation. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2014;48(4):318–27.
59. Formánek M, Jančatová D, Komínek P, Tomanová R, Zeleník K. Comparison of Impedance and Pepsin Detection in the Laryngeal Mucosa to Determine Impedance Values that Indicate Pathological Laryngopharyngeal Reflux. *Clinical and Translational Gastroenterology*. 2017;8(10):e123.
60. Ford CN. CLINICIAN ' S CORNER of Laryngopharyngeal Reflux. *Jama*. 2005;294(12):1534–40.
61. Hayat JO, Gabieta-Somnez S, Yazaki E, Kang JY, Woodcock A, Dettmar P, et al. Pepsin in saliva for the diagnosis of gastro-oesophageal reflux disease. *Gut*. 2015;64(3):373–80.

62. Na SY, Kwon OE, Lee YC, Eun YG. Optimal timing of saliva collection to detect pepsin in patients with laryngopharyngeal reflux. *Laryngoscope*. 2016;126(12):2770–3.
63. Lechien JR, Bobin F, Muls V, Horoi M, Thill MP, Dequanter D, et al. Saliva Pepsin Concentration of Laryngopharyngeal Reflux Patients Is Influenced by Meals Consumed Before the Samples. *Laryngoscope*. 2021;131(2):350–9.
64. Wang J, Zhao Y, Ren J, Xu Y. Pepsin in saliva as a diagnostic biomarker in laryngopharyngeal reflux: a meta-analysis. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2018;275(3):671–8.
65. Calvo-Henríquez C, Ruano-Ravina A, Vaamonde P, Martínez-Capoccioni G, Martín-Martín C. Is Pepsin a Reliable Marker of Laryngopharyngeal Reflux? A Systematic Review. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery (United States)*. 2017;157(3):385–91.

UTILIDAD DEL PEPTEST EN EL DIAGNÓSTICO DEL REFLUJO FARINGOLARÍNGEO: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tárrega Tirado F.
Faubel Serra M.¹

¹Servicio de Otorrinolaringología del Hospital General Universitario de Castellón de la Plana

INTRODUCCIÓN

El reflujo faringolaríngeo (RFL) es una afección inflamatoria de la vía aerodigestiva superior, debido al movimiento retrógrado del contenido gastrointestinal, caracterizado por la presencia de síntomas, signos y afectaciones tisulares. Los puntos fuertes para investigar la validez del Peptest residen tanto en la ausencia de una prueba de referencia como la potencial patogenicidad de la pepsina en el RFL.

OBJETIVOS

Principal: Valorar la utilidad del test de pepsina en saliva (Peptest) para el diagnóstico del RFL; como método útil, no invasivo, sencillo y económico.

Secundarios:

- Analizar el papel de la pepsina en la patogenia del RFL.
- Comparar la validez del Peptest para el diagnóstico del RFL con otras pruebas diagnósticas como: el RSI, el RFS y el HEMII-pH.
- Examinar la influencia diagnóstica de la concentración de pepsina, el punto de corte óptimo para el Peptest y el mejor momento del día para tomar la muestra.

METODOLOGÍA

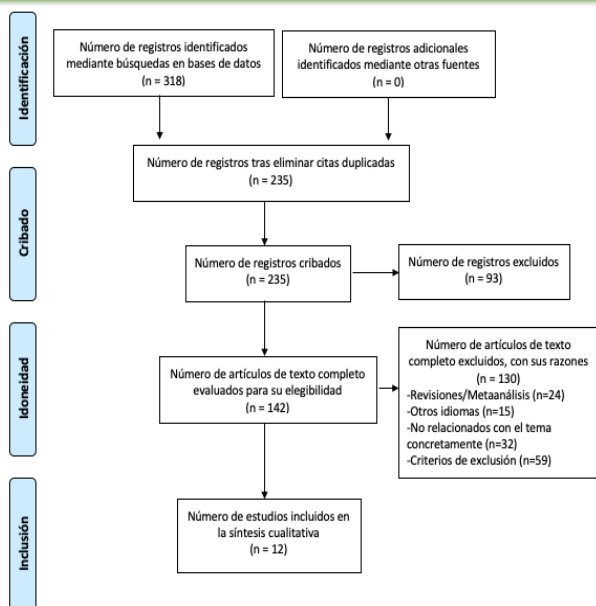


Figura 1. Diagrama de flujo.

RESULTADOS

El punto de corte para la pepsina generalmente empleado en el Peptest es de 16 ng/mL. Diversos autores han estudiado puntos de cortes óptimos para la pepsina, obteniendo resultados como: 216 ng/mL o 210 ng/mL.

PARÁMETRO DE REFERENCIA	% MÍNIMO DE PEPTEST (+)	% MÁXIMO DE PEPTEST (+)
RSI > 13	63%	73%
RFS > 7	78%	94%
pH-METRÍA-24H	68%	85%

Tabla 1. Porcentajes de Peptest positivos en referencia con los diferentes parámetros diagnóstico del RFL.

Con respecto el mejor momento para la recogida de la muestra, Na SY *et al* y Lechien JR *et al* defienden que los valores más altos de pepsina son en ayunas; mientras que Weitzendorfer M *et al* no puede corroborar esta hipótesis ya que los valores más altos los obtuvo tras las comidas.

CONCLUSIONES

El Peptest podría ser una prueba útil como herramienta diagnóstica complementaria para el diagnóstico del RFL, minimizando así la cantidad de pruebas invasivas y de tratamientos empíricos.

No existe evidencia significativa de que el Peptest presente una validez superior a otras pruebas diagnósticas. Sin embargo, la combinación del Peptest con métodos diagnóstico clínicos (RSI y RFS) podría ser una alternativa interesante.

Existe una fuerte evidencia de la implicación de la pepsina como agente patógeno del RFL. No obstante, es conveniente continuar investigando sobre la concentración óptima para el valor de corte, ni sobre el momento más adecuado para la toma de la muestra.